

Série A, n° 1118

N° d'ordre 1969

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

le grade de docteur ès Sciences naturelles

PAR

Gilbert RANSON

Licencié ès Sciences naturelles

PREMIÈRE THÈSE

**L'Absorption de matières organiques dissoutes par la surface extérieure
du corps chez les animaux aquatiques**

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 22 NOV 1927 devant la Commission d'examen

MM. RABAUD Président
JOLEAUD }
COMBES } Assesseurs



PARIS

ED. BLONDEL LA ROUGERY, ÉDITEUR
7, RUE SAINT-LAZARE

1927

Série A, n° 1118

N° d'ordre 1969

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

le grade de docteur ès Sciences naturelles

PAR

Gilbert RANSON

Licencié ès Sciences naturelles

PREMIÈRE THÈSE

**L'Absorption de matières organiques dissoutes par la surface extérieure
du corps chez les animaux aquatiques**

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 1927 devant la Commission d'examen

MM RABAUD Président

JOLEAUD }
COMBES } Assesseurs



PARIS
ED BLONDEL LA ROUGERY, ÉDITEUR
7, RUE SAINT-LAZARE

1927

Faculté des Sciences de l'Université de Paris

MM.

Doyen C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.
Doyens honoraires P. APPELL, M. MOLLIARD.

Professeurs honoraires
 P. PUISEUX.
 V. BOUSSINESQ.
 A. JOANNIS.
 H. LE CHATELIER.
 H. LEBESGUE.
 A. FERNBACH.
 A. LEDUC.
 G. SAGNAC.

Professeurs
 Émile PICARD Analyse supérieure et algèbre supérieure
 G. KOENIG Mécanique physique et expérimentale.
 E. GOURSAT Calcul différentiel et calcul intégral.
 P. JANET Electrotechnique générale.
 F. WALLERANT Minéralogie.
 H. ANDOYER Astronomie.
 P. PAINLEVÉ Mécanique analytique et mécanique céleste.
 E. HAUG Géologie.
 Gabriel BERTRAND Chimie biologique.
 M^{me} P. CURIE Physique générale et radioactivité
 M. GAULLERY Zoologie (Évolution des êtres organisés).
 C. CHABRIE Chimie appliquée.
 G. URBAIN Chimie minérale.
 Émile BOREL Calcul des probabilités et Physique mathématique.
 L. MARCHIS Aviation.
 Jean PERRIN Chimie physique.
 Remy PERRIER Zoologie (Enseignement P. C. N.).
 H. ABRAHAM Physique.
 M. MOLLIARD Physiologie végétale.
 E. CARTAN Géométrie supérieure.
 L. LAPICQUE Physiologie générale.
 E. VESSIOT Théorie des groupes et calcul des variations.
 A. COTTON Physique générale.
 J. DRACH Application de l'analyse à la géométrie.
 Charles FABRY Physique.
 Charles PÉREZ Zoologie.
 Léon BERTRAND Géologie appliquée et géologie régionale
 R. LESPIEAU Théories chimiques.
 E. RABAUD Biologie expérimentale.
 P. PORTIER Physiologie comparée.
 E. BLAISE Chimie organique.
 P.-A. DANGEARD Botanique.
 P. MONTEL Mécanique rationnelle.
 P. WINTREBERT Anatomie et histologie comparées
 O. DUBOSCQ Biologie maritime.
 G. JULIA Mathématiques générales.
 A. JOB Chimie générale.
 A. MAILHE Étude des combustibles.
 L. LUTAUD Géographie physique.
 Eugène BLOCH Physique théorique et physique céleste.
 N Mécanique des fluides et applications.
 E. HÉROUARD Zoologie.
 E. PÉCHARD Chimie (Enseignement P. C. N.).
 V. AUGER Chimie analytique.
 M. GUICHARD Chimie minérale.
 A. GUILLET Physique.
 C. MAUGUIN Minéralogie.
 L. BLARINGHEM Botanique.
 A. MICHEL-LÉVY Pétrographie.
 A. DEREIMS Géologie.
 R. DONGIER Physique du globe.
 A. DENJOY Calcul différentiel et intégral.
 H. BÉNARD Physique (P. C. N.).
 E. DARMOIS Physique.
 G. BRUHAT Physique.
 H. MOUTON Chimie physique.
 L. JOLEAUD Paléontologie.
 M. JAVILLIER Chimie biologique.
 A. DUFOUR Physique (P. C. N.).
 F. PICARD Zoologie (Évolution des êtres organisés).
 ROBERT-LÉVY Zoologie.
 L. DUNOYER Optique appliquée.
 A. GUILLERMOND Botanique (P. C. N.).
 A. DEBIERNE Radioactivité.

Secrétaire Daniel TOMBECK.



INTRODUCTION

Il n'est plus question, à l'heure actuelle, de chercher à établir que les phénomènes vitaux sont soumis au même déterminisme que ceux se rapportant aux corps bruts, à tous les autres phénomènes naturels. C'est un fait acquis. Le déterminisme est une réalité générale, naturelle, objective que l'esprit est arrivé à enregistrer et qu'il ne crée pas.

Ce n'est pas une croyance, une foi au déterminisme que nous avons. L'esprit scientifique le constate, l'enregistre et l'exprime. Il ne crée rien. Tout objet de foi ou de croyance est, au contraire, une création de l'esprit, un produit maladif de l'imagination résultant d'un état nerveux pathologique. Il est particulier à l'individu ou à la variété d'individus qui l'invente. Il est uniquement en eux et non en dehors d'eux, dans la nature. La croyance, elle aussi, est déterminée, mais, d'après ce qui vient d'être dit, par l'état nerveux du croyant.

Nous ne croyons donc pas au déterminisme des phénomènes vitaux, *nous le constatons*.

Nous devons par conséquent nous consacrer à l'étude du déterminisme des phénomènes biologiques que nous constatons, c'est-à-dire à définir et à déterminer, pour chacun d'eux, les conditions matérielles qui produisent leur manifestation.

Nos sens perçoivent deux ordres de faits. Les uns qui ne changent pas, tout le temps que nous les examinons à loisir, les décrivons dans leurs plus petits détails. C'est le *fait statique*.

Mais il en est d'autres qui changent sous nos yeux, se modifient, se transforment. Nous enregistrons ces modifications, ces transformations comme nous l'avions fait précédemment, mais ici naît, en même temps, le concept de mécanisme, c'est-à-dire que nous constatons et enregistrons un mécanisme naturel, objectif. « A la longue, les hommes finirent par s'apercevoir que les diverses propriétés d'un même corps, d'une part et, d'autre part, les phénomènes, c'est-à-dire les changements successifs de ces propriétés ne sont pas indépendants les uns des autres. L'éclat d'un corps chaud accompagne l'impression de chaleur qu'il nous cause ; la rigidité d'une poutre de fer dépend de ses dimensions ; de même la vitesse d'une pierre lancée à la main croît avec l'effort de nos muscles ; le développement des plantes est corrélatif de la température de l'air, de l'humidité du sol, etc. (1). »

Ici l'effet ne pouvait être séparé de sa cause. L'ensemble constitue *un fait dynamique*. Il correspond, dans le cerveau, à une idée.

De la constatation de ceux que je viens de citer et d'autres de la vie courante : la succession régulière des jours et des nuits, la régularité des phénomènes astronomiques, etc., est née la Raison, la Logique. La Raison, la Logique sont dans la nature. C'est une réalité très générale, objective.

Mais devenue idée inconsciente dans le cerveau de l'homme, celui-ci essentiellement affectif ne l'a exercée que sur les produits de ses sentiments, de son imagination, de ses idées subjectives. Il en est résulté des dogmes et des systèmes.

A mesure que les faits dynamiques qu'il était susceptible d'enregistrer devenaient de plus en plus nombreux, son concept de mécanisme se développait, et, petit à petit, il prenait conscience de sa Raison. Les réalités objectives devenaient de plus en plus le sujet de ses préoccupations. Il finit par comprendre que le mécanisme de son raisonnement n'était lui-

(1) Henry LE CHATELIER, *Science et Industrie*, E. Flammarion, 1925.

même que le résultat de l'enregistrement d'un mécanisme naturel, vérité très générale extérieure à lui.

Le principe du déterminisme lui apparut de plus en plus général à mesure qu'il découvrait les causes des effets qu'il constatait. Il pensa que le fait statique lui-même devait être déterminé. Il n'y aurait seulement qu'une différence de temps.

Le fait statique n'est qu'un moment de l'évolution du fait dynamique auquel il correspond. Il en fait partie, certes, et il est nécessaire de lui laisser toute sa valeur. Mais il faut reconnaître qu'il n'est pas la vérité scientifique, dynamique, mais une parcelle de celle-ci.

La vérité scientifique est-elle alors le fait dynamique? Oui, si celui-ci présente un caractère très général, mais pas encore entièrement s'il n'est que l'expression d'une particularité. Dans ce dernier cas, c'est le mécanisme commun à toutes les particularités de la même espèce qui constitue la vérité. Quelquefois, il est nécessaire d'aller encore plus loin pour remonter à la vérité vraiment générale.

Cette dernière est dans chacune des particularités, mais une seule ne suffit pas à la déterminer. Il les faut toutes.

La loi est l'expression d'un fait, d'une vérité générale, dynamique. *C'est un fait*. La loi étant comprise de cette façon, il n'est plus question de la séparer du fait. Il faut reconnaître que si le fait statique n'en est qu'une parcelle, il n'en fait pas moins partie intégrante, et qu'il ne peut en être séparé. Il ne faut pas le traiter avec mépris, ce serait une grosse erreur.

Le rapprochement des particularités pour en tirer le mécanisme commun, la loi, constitue ce qu'on appelle la systématisation des faits. Elle n'a rien de commun avec celle des faits statiques. Cette dernière ne conduit qu'à des hypothèses plus ou moins vraisemblables sur le mécanisme des phénomènes.

La voie par laquelle a lieu le verdissement des Huitres n'est qu'un cas particulier de l'absorption de substances organiques dissoutes par la surface extérieure du corps chez les animaux aquatiques. Ce genre d'absorption n'est lui-même qu'un cas particulier de l'absorption protoplasmique. Et cette dernière est déterminée par les réactions physico-chimiques entre le protoplasma et les substances dissoutes du milieu extérieur. Le verdissement des Huitres n'est qu'un cas particulier de cette vérité très générale.

Rechercher le déterminisme des faits que nous constatons, telle est notre préoccupation.

En ce qui concerne les êtres vivants, c'est particulièrement difficile parce que les phénomènes vitaux sont extrêmement complexes, très enchevêtrés, et qu'un grand nombre de facteurs sont susceptibles d'intervenir. C'est à démêler ces facteurs qu'il faut d'abord se consacrer.

On sait que le tout premier travail consiste dans la simple constatation de l'effet. La description minutieuse macroscopique et microscopique est nécessaire, indispensable; l'analyse chimique, au besoin, dans certains cas, également. Si l'on intervient d'une façon ou d'une autre pour rendre plus facile l'observation ou pour l'examen dans d'autres conditions, il est indispensable de bien connaître, avant tout, le déterminisme précis des modifications que l'on a provoquées.

Beaucoup se contentent de ces simples observations. Ils en tirent des conclusions sur le mécanisme du phénomène qu'ils ont constaté. Certes, ils ont l'esprit dynamique puisqu'ils cherchent à établir, par la pensée, les causes matérielles, mais ils croient que l'examen statique suffit. C'est ce qu'on appelle la déduction anatomique.

Or, la déduction anatomique, comme CLAUDE BERNARD l'a montré, ne suffit pas pour

trouver le mécanisme d'un phénomène, autrement dit une constatation statique ne permet pas d'établir un fait dynamique.

CLAUDE BERNARD (1) a montré en effet qu'il ne suffit pas de la déduction anatomique pour découvrir les fonctions d'un organe ; « la seule inspection directe ou armée du microscope des différentes parties qui composent sa texture anatomique ou cadavérique » n'est pas suffisante. De même d'ailleurs « dans les tissus qui constituent l'organisme animal, la composition chimique élémentaire, qu'il est très important et indispensable de connaître au point de vue de la constitution statique de l'organisme, n'est-elle d'aucun secours pour faire découvrir les propriétés physiologiques ». Ceci s'applique à tous les phénomènes vitaux.

BERGSON (2) qui répète, au sujet des théories de l'évolution, à peu de chose près ce que CLAUDE BERNARD avait très bien dit, n'a donc rien inventé. L'évolution ne crée d'ailleurs rien ; elle ne fait que transformer. Les réactions chimiques qui évoluent elles aussi dans le temps ne créent rien, elles transforment.

La déduction anatomique ne conduit qu'à une hypothèse. En biologie, il est si facile de faire des hypothèses qu'on doit les regarder seulement comme des stimulants à la recherche et rien de plus. En aucun cas, on ne doit les considérer comme des vérités avant que cela ait été établi d'une façon définitive par l'expérience.

L'hypothèse peut correspondre à la réalité, mais elle peut aussi en être éloignée, et rien ne permet, dans l'observation statique, d'en faire une vérité.

Toutes les hypothèses peuvent être émises et ce qui les condamne d'une façon définitive à n'avoir aucune valeur démonstrative, c'est que deux hypothèses contradictoires peuvent se soutenir en même temps. Il suffit d'un esprit un peu exercé pour cela. C'est pourquoi en métaphysique, où tout n'est qu'hypothèses, c'est tantôt l'une, tantôt l'autre qui est en faveur.

Celui qui veut connaître la réalité ne se contente pas d'hypothèses.

On perd son temps à discuter des hypothèses. Il faut toujours et immédiatement revenir au fait, non pas pour recommencer à l'observer par la même méthode, mais pour en chercher le déterminisme, pour essayer de retrouver le fait dynamique dont il constitue un des chaînons.

MAGENDIE (3) disait déjà en 1836 : « Tandis que les doctrines les plus ingénieuses finissent toujours par s'éteindre, quelle qu'ait été d'ailleurs la vogue dont elles ont joui, les faits que l'expérience a confirmés non seulement bravent les âges, mais même reçoivent du temps une juste et éclatante sanction. » Et aussi : « A quoi bon s'escrimer avec de subtils arguments, se fatiguer en d'ardentes controverses pour démontrer l'existence plus ou moins probable d'un fait ? L'avantage restera au plus habile jouteur, et quel avantage ? Celui bien souvent d'avoir fait triompher une opinion fausse contre une opinion vraie, d'avoir substitué des explications mensongères à des phénomènes réels. Il n'y a donc ici, non pas usage, mais abus d'un des plus nobles attributs de l'intelligence de l'homme. »

Ainsi, en ce qui concerne la voie par laquelle le pigment vert arrive dans l'épithélium branchial de l'Huître, la plupart des auteurs rapprochant l'animal aquatique du terrestre ont pensé que l'absorption avait lieu de la même façon et que le pigment vert ne pouvait se trouver à la surface extérieure. Ils ont pensé et admis qu'il s'agissait d'une excrétion leucocytaire puisque les leucocytes préoyaient à tout.

Cependant, tel ne fut pas l'avis de CARAZZI. Pour lui, sa position externe dans l'épithé-

(1) CL. BERNARD *Leçons de physiologie appliquée à la Médecine.*, vol. II, 1855-56.

(2) BERGSON, *L'évolution créatrice.*

(3) MAGENDIE, *Leçons sur les phénomènes physiques de la vie*, Paris, 1836.

lium indiquait que les éléments de ce pigment pénétraient directement de l'extérieur dans le tissu.

Voilà donc deux hypothèses sur la voie suivie par le pigment (ou des éléments susceptibles d'en provoquer la formation) qui peuvent très bien se soutenir l'une et l'autre. Aucune ne donne donc la véritable solution du problème, aucune ne satisfait véritablement l'esprit parce qu'on sent bien que ce n'est qu'une hypothèse.

La méthode de déduction anatomique ne conduit donc pas à la découverte de la réalité.

La méthode expérimentale au contraire y conduit. Seule l'expérience met fin aux discussions. Pourquoi?

Parce que l'expérience est dynamique. Elle tend à reproduire d'une façon précise toutes les conditions de la manifestation du phénomène que l'esprit enregistre. Elle reproduit la réalité. C'est ce que l'on cherche.

L'expérience est donc entreprise en vue de vérifier une hypothèse, une idée : l'idée est toujours dynamique. On ne peut faire une expérience que si l'on a une idée sur le phénomène que l'on observe.

Mais, on n'a pas toujours immédiatement une idée sur un phénomène ; son explication ne nous apparaît pas toujours très facilement. Les manifestations biologiques, en particulier, sont extrêmement complexes. Le temps est souvent l'un des facteurs qui nous gêne le plus pour les comprendre.

Il est vrai que par analogie avec des phénomènes connus et c'est presque toujours ainsi que l'esprit travaille, on peut émettre une hypothèse et essayer de la vérifier par l'expérience.

Dans beaucoup de cas, en agissant de cette façon on risque de faire de très nombreuses expériences sans résultat car on simplifie par trop le problème étudié.

Il est indispensable, avant de tenter une expérience de se consacrer à un long travail préliminaire. Sur certaines questions ce dernier dure pendant plusieurs générations. L'observation statique en fait partie. Puis vient l'analyse du phénomène. Elle consiste à dénombrer et à isoler les facteurs susceptibles d'intervenir.

En l'examinant en des endroits différents on arrive progressivement à éliminer certains de ces derniers, et à ne plus fixer son attention que sur les autres.

La systématisation des faits statiques peut servir. Mais il faut bien se dire qu'elle n'est pas un but. Elle ne donne même qu'une très vague indication sur le mécanisme des phénomènes. En tout cas, c'est uniquement ce qu'on doit y chercher.

Il est un autre travail préliminaire essentiel. Les phénomènes vitaux étant complexes, il faut diviser le problème posé en problèmes plus simples, élémentaires. En ce qui concerne le verdissement des Huitres, par exemple, on s'est demandé d'abord quelle était l'origine du pigment. Cette question était tout naturellement dépendante de celle de la biologie du *Navicula Ostrearia*. Puis, l'origine étant bien connue dans toutes ses modalités, il s'agissait de savoir quelle voie suivait le pigment pour arriver dans le protoplasma épithélial externe. La voie connue, le phénomène apparaissait sous son vrai jour, c'est-à-dire comme le résultat d'une absorption par la surface extérieure du corps. A ce propos, un nouveau problème se posait, celui de savoir si cette absorption était un processus normal, indispensable à l'animal aquatique.

Ce sont autant de questions qui doivent être résolues séparément sans oublier qu'elles sont intimement liées et même qu'elles ne constituent qu'un seul et même phénomène. On le divise pour faciliter la recherche seulement.

Pour chacune de ces questions, il faut recommencer le travail de recherche des facteurs en jeu pour en éliminer petit à petit un certain nombre.

Lorsqu'on est arrivé enfin à n'envisager que quelques facteurs ou un seul, l'idée, l'hypothèse émise est la plus vraisemblable, celle qui se rapproche le plus de la réalité. C'est alors, mais alors seulement, que l'expérience peut être tentée utilement.

On ne doit jamais rester à l'hypothèse, si vraisemblable soit-elle. Étant donné le peu de valeur démonstrative de celle-ci, on ne doit pas attacher une grande importance à ses hypothèses, à ses idées personnelles. On doit toujours être prêt à les rejeter et à en changer. C'est à l'expérience qu'on doit porter toute son attention. Son résultat seul satisfait l'esprit scientifique parce qu'il exprime la réalité, même s'il ne correspond pas du tout aux idées qu'on s'était faites. C'est la vérité naturelle, objective, seule qui importe.

Dans la vérification expérimentale d'une idée, d'une hypothèse, on doit être maître de tous les facteurs. S'il en est un qu'on ignore il peut être seul à intervenir et l'idée qu'on se fait du phénomène est erronée.

On peut expérimenter pour contribuer, avec l'observation, à isoler les facteurs en modifiant, par exemple, les conditions du milieu. Ces expériences sont incomplètes parce qu'on n'y est pas maître de tous les facteurs. Elles ne permettent en aucun cas d'aboutir à une solution définitive. Leur résultat doit seulement être rapproché de celui des autres observations faites dans les conditions naturelles, rapprochement qui permettra, à la longue, d'aboutir à l'hypothèse la plus vraisemblable.

Ainsi, l'expérience peut être utilisée dans deux cas au moins, mais c'est toujours une expérience qui donne la solution définitive d'un problème, la vérification expérimentale de l'hypothèse à laquelle a conduit l'analyse dynamique.

En ce qui concerne la constitution du protoplasma vivant et ses réactions, on est encore à la période de l'observation statique avec les déductions qu'on en tire. Mais là, comme dans tout ce qui a trait aux êtres vivants, il faut bien se dire que, pas plus la déduction anatomique que celle à laquelle conduit la connaissance de la composition chimique élémentaire du protoplasma, ne peut expliquer ses propriétés, ses réactions. Là encore on n'arrive qu'à des hypothèses.

« Les propriétés vitales de la matière vivante, dit CLAUDE BERNARD, doivent être constatées directement par nos sens sur le vivant et elles ne sauraient se déduire en aucune manière de la conformation de la matière morte (1). »

Toutes les manifestations biologiques qui doivent être considérées, en dernière analyse, comme le résultat de réactions protoplasmiques sont toutes indiquées pour permettre l'étude du mécanisme de ces dernières.

C'est l'étude biologique, dynamique, expérimentale de ses réactions, appuyée sur les résultats de l'analyse chimique globale qui permettra de se rendre compte de la constitution exacte du protoplasma.

J'ai insisté plus haut sur la nécessité de rechercher tous les facteurs susceptibles d'intervenir dans la manifestation d'un phénomène biologique. Cela est tout particulièrement nécessaire dans le problème du déterminisme de la forme. Il semble que, jusqu'ici, on ait oublié souvent d'envisager sinon l'essentiel du moins un des facteurs le plus important. C'est le facteur protoplasmique.

Comme le dit encore CLAUDE BERNARD : « Il y a toujours à considérer *le corps* dans lequel se passe le phénomène, et les circonstances extérieures ou le milieu qui détermine ou sollicite le corps à manifester ses propriétés. La réunion de ces conditions est indispensable

(1) CL. BERNARD, *loc. cit.*

pour la manifestation du phénomène. Si l'on supprime le milieu, le phénomène disparaît, de même que si le corps en est enlevé. Les phénomènes de la vie, aussi bien que les phénomènes des corps bruts, nous présentent cette double condition d'existence. Nous avons, d'une part, *l'organisme* dans lequel s'accomplissent les phénomènes vitaux, et, d'autre part, le *milieu cosmique* dans lequel les corps vivants, comme les corps bruts, trouvent les conditions indispensables pour la manifestation de leurs phénomènes. Les conditions de la vie ne sont ni dans l'organisme ni dans le milieu extérieur, mais dans les deux à la fois. En effet, si l'on supprime ou si l'on altère l'organisme, la vie cesse, quoique le milieu reste intact ; si, d'un autre côté, on enlève ou si l'on vicie le milieu, la vie disparaît également, quoique l'organisme n'ait point été détruit. »

Certes, les facteurs externes agissent sur le protoplasma et le modèlent, mais il ne faut pas oublier que le protoplasma réagit et que, surtout, il intervient lui-même par sa constitution. Or, nous savons maintenant qu'il n'y a pas un protoplasma, mais des protoplasmas. Il est compréhensible que tant par leur différence propre que par la différence d'action des circonstances extérieures, il doit résulter des différences de formes dans le même milieu.

Et c'est certainement du fait que l'on oublie souvent de considérer le facteur protoplasma qu'on n'arrive pas à se mettre d'accord sur le phénomène dit d'adaptation.

Étant donné que dans cette question biologique de la forme et de son déterminisme, le protoplasma joue un rôle essentiel, il est évident qu'on n'arrivera à en prévoir la solution que lorsqu'on connaîtra d'une façon aussi parfaite que possible, je ne dis pas sa constitution, mais au moins le mécanisme de ses réactions.

C'est l'étude biologique des réactions du protoplasma avec les facteurs extérieurs qui permettra de résoudre le problème de la forme.

Il faut maintenant que je revienne sur une de mes constatations précédentes pour la préciser, la compléter. Les hypothèses, les idées que nous avons sur un phénomène, ai-je dit, n'ont aucune valeur démonstrative. Toutes peuvent se soutenir. Il est évident qu'il ne s'agit ici que des hypothèses scientifiques, celles qui gardent le contact avec la réalité, celles qui ne font pas appel à l'irréel, à l'indéterminable, et dont il ne peut être question en science. Je ne parlerai donc que des hypothèses scientifiques et non des hypothèses subjectives, malades.

Il serait erroné de croire qu'en conséquence, on doit émettre le moins d'hypothèses possible. C'est le contraire qui est le propre de la recherche. L'esprit doit constamment en poser de particulières et de générales. Elles sont le stimulant de la découverte. Elles provoquent l'expérience démonstrative.

Sans hypothèse scientifique, il ne peut y avoir de nouvelles découvertes, on ne peut établir le déterminisme de nouveaux faits. Par elle, l'esprit reconstitue un fait dynamique possible en s'aidant de ce qu'il connaît déjà.

Seule, elle n'est rien, mais sans elle, la pratique erre au hasard. Elle ne vaut que par ses conséquences, c'est-à-dire la mise en évidence de nouveaux faits dynamiques.

La possibilité d'émettre des hypothèses est le propre de l'esprit philosophique. Celui-ci est nécessaire à la recherche scientifique parce qu'il s'oppose à la routine, éveille la pensée, pousse en avant, ouvre de vastes perspectives, pose de nouveaux problèmes.

Mais l'esprit philosophique livré à lui-même tourne à la phraséologie et à la métaphysique. Pour éviter cet écueil, il doit rester indissolublement lié à la pratique de la recherche du déterminisme des faits, à la pratique expérimentale. L'esprit pratique s'oppose à la fantaisie philosophique.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER



L'absorption du pigment vert du « Navicula Ostrearia » par quelques Invertébrés

a) L'origine du verdissement des Huîtres

HISTORIQUE

Je ne ferai pas l'historique chronologique rigoureux, mais un historique objectif. Ce ne sont pas tant les auteurs qui importent que l'évolution de l'idée que nous nous faisons du phénomène. C'est l'évolution de cette idée que je suivrai à travers les auteurs que je citerai. Et celle-là a suivi, comme on va le voir, la même loi que toutes les autres.

Depuis fort longtemps, on a observé que les Huîtres présentaient, dans certains de leurs organes, une pigmentation particulière lorsqu'elles étaient placées dans certaines conditions. Instinctivement, on rattachait cette particularité à des causes très variées sur lesquelles on ne fixait pas particulièrement l'attention. Puis, par la suite, on a eu l'idée de les isoler, on s'est arrêté à un facteur qui paraissait prépondérant. La cause du phénomène ne se rapportait plus alors qu'à un seul facteur. L'analyse avait conduit à l'hypothèse la plus vraisemblable. Il restait à faire la vérification, la synthèse expérimentale qui a été tentée après et qui a permis de résoudre définitivement la partie essentielle du problème.

Mais l'évolution de la recherche a des à-côtés. Elle n'apparaît pas aussi nette. Des auteurs approuvent, d'autres révoquent en doute, des discussions naissent ; quelques-uns ne pouvant vérifier directement les faits signalés partent de faits différents et, par comparaison, émettent des hypothèses variées. Il est alors nécessaire de revenir sur les expériences démonstratives, de les reprendre et de mettre enfin un terme aux discussions. C'est beaucoup de temps perdu certes, mais c'est là l'histoire de toute découverte. Toutes ces discussions ne sont d'ailleurs pas inutiles, car elles permettent de pénétrer plus avant dans l'intimité du phénomène et de l'examiner sur toutes ses faces, dans toutes ses conséquences. Des problèmes sont soulevés qui se rattachent plus ou moins directement au premier et le champ d'investigations s'étend ; on finit souvent par constater que le fait observé n'est qu'un cas particulier d'un phénomène plus général.

Les observations, à ce sujet, avant 1820, ne présentent rien de particulier. Il me suffira de rappeler qu'il y avait trois hypothèses émises :

- 1^o La coloration est produite par des plantes marines vertes absorbées par l'Huitre ;
- 2^o Des plantes marines colorent l'eau en vert, et l'Huitre vivant dans cette eau en prend la teinte ;
- 3^o Une maladie du foie.

Malgré tout, il me faut signaler qu'en 1669 l'Anglais THOMAS SPRAT, dans son travail sur *l'Histoire de la Société Royale de Londres* (traduit en français), consacre quelques pages à « l'Histoire de la Génération et du Gouvernement des Huitres vertes, qu'on appelle ordinairement des Huitres de Colchester, en Angleterre ». Ces Huitres présentent, sans aucun doute, d'après les observations de l'auteur, les mêmes particularités que celles de la région de Marennes. Voici d'ailleurs quelques lignes qui montrent que SPRAT avait parfaitement observé le phénomène : « Les Huitres qu'on veut rendre vertes, on les met dans des fosses profondes environ de 3 pieds, dans les marais salants, qui sont inondés par les grandes marées auxquels il y a des écluses d'où on fait sortir l'eau jusqu'à ce qu'il n'y ait qu'un pied et demi de profond. Ces fosses deviennent vertes par une certaine qualité du terroir qui coopère avec la chaleur du soleil, ce qui communique cette couleur aux Huitres qu'on y met, dans quatre ou cinq jours, quoique d'ordinaire on les laisse là l'espace de six semaines ou de deux mois et dans ce temps-là elles deviennent d'un vert obscur.

Pour prouver que le soleil opère à les rendre vertes, les fosses de Tolesbury ne sont vertes qu'en été seulement ; mais aussi que le terroir a une plus grande vertu, les fosses de Brickelsea verdissent tant en hiver qu'en été et, pour en donner une preuve plus ample, il y a certaines fosses qui sont à un pied d'une autre qui verdit, qui ne verdissent point ; et il y en a qui ont bien verdi, lesquelles, avec le temps perdent leur qualité » (pp. 376-377 de la traduction française, Genève, 1669).

Ce qui est intéressant ici c'est que SPRAT a bien signalé le verdissement du sol et qu'il y a soupçonné la cause du verdissement des Huitres.

GAILLON, en 1820, a fait en somme la même observation et a émis la même hypothèse, mais il est allé plus loin. Il a examiné au microscope la matière verte qui recouvre le fond d'un sol vert et vit « des milliers d'animalcules gélatineux linéaires, pointus aux extrémités, arrondis au centre, contractiles dans cette partie, chargés de matière verte mobile et doués d'une vélocité admirable d'impulsion et de rétrogradation ». Il propose d'appeler cet animalcule *Vibrio ostrearius* (1820) et en 1824 accepte le nom de BORY DE SAINT-VINCENT qui l'a fait entrer, en 1822, dans le nouveau genre *Navicula*.

GAILLON, après avoir montré que les hypothèses précédentes ne peuvent se soutenir, donne les raisons qui lui font supposer que le *Navicula Ostrearia* est bien la cause du verdissement des Huitres : « Ces deux qualités (goût et couleur) s'augmentent d'autant que le séjour des Huitres se prolonge dans un parc en verdure sans renouvellement de l'eau qu'il renferme. Lorsque ce renouvellement a lieu fréquemment, l'Huitre perd peu à peu cette intensité de nuance verte et reprend au bout de quelque temps sa couleur naturelle, expérience qui me paraît ne laisser aucun doute sur la réalité de la cause à laquelle j'attribue la viridité des Huitres » (1820, p. 225).

En somme, il note que l'apparition des Navicules provoque le verdissement des Huitres et leur disparition, le déverdissement progressif de ces Huitres. Sa conclusion était une hypothèse très près de la réalité puisqu'elle résultait d'une expérience faite dans la nature. Cependant cette expérience n'est pas une vérification parce qu'elle ne permet pas d'isoler tous les

facteurs. D'autres actions dont on n'avait aucune idée et qui ont d'ailleurs été considérées par la suite comme prépondérantes par d'autres observateurs, pouvaient intervenir.

Quoi qu'il en soit, la question avait fait un grand pas. Il ne restait plus qu'à vérifier. Il fallait placer des Huitres dans des conditions telles que seules les Navicules puissent agir. GAILLON ne l'a pas fait.

C'est la raison pour laquelle les auteurs de la même époque et des années suivantes, que je vais citer rapidement, ont pu discuter ses résultats.

C'est ainsi que BLAINVILLE (1821) rattache bien le verdissement au Vibrion de GAILLON, mais il pense que le Vibrion pénètre dans l'Huitre parce que celle-ci est malade. Et c'est pour lui le fait essentiel.

POUR BORY DE SAINT-VINCENT (1823 et 1826), on trouve des Huitres vertes sans la participation du *Vibrio ostrearius*. L'origine de la pigmentation serait la « matière verte ».

En 1841, VALENCIENNES examine des Huitres vertes et étudie l'action de divers réactifs sur leurs organes. Son attention étant plus particulièrement attirée sur la présence de pigment dans l'intestin terminal, il suppose que la coloration verte est due à une maladie du foie.

En 1845, un auteur italien, BIZIO, remarque que des Huitres en putréfaction prennent une teinte bleue et il suppose que l'ammoniaque formé s'unissant au cuivre donne cette teinte. Sans, probablement, avoir observé de véritable Huitre verte, il pense que les Huitres de Marennes acquièrent leur pigmentation par le même processus.

COSTE, lors de sa grande mission, ne s'est pas attaché à observer d'une façon particulière le verdissement des Huitres. Dans son travail sur les résultats de son voyage, il discute les diverses hypothèses émises, même celle de l'action de la Navicule. Il donne les résultats des analyses d'Huitres vertes et d'argile des claires faites par BERTHELOT sur sa demande et il en conclut que la nature chimique du sol semble être le facteur prépondérant (1861).

En 1866, O. SHAUGHNESSY résume très longuement les observations et conclusions de GAILLON.

BLAKE, en 1870, dans son rapport, admet l'hypothèse de l'action de la Diatomée.

En 1877, DYER signale les expériences de BORNET et PUYSGUR que je vais étudier longuement.

C'est en effet à cette date qu'il faut arriver pour voir se réaliser la vérification expérimentale de l'hypothèse de GAILLON. La démonstration devenait complète, le déterminisme était définitivement établi.

PUYSÉGUR obtint, en 1875, des Huitres vertes près du Croisic dans des claires (1) établies à Sissable. C'est en 1877, en faisant part de ses résultats à BORNET, que ce dernier lui indiqua la Navicule bleue comme étant la cause de la pigmentation des Huitres. Ils entreprirent ensemble des expériences dont les résultats ont été publiés par PUYSGUR en 1880. Ils récoltaient les Navicules à l'aide d'une cueiller sur le fond ou le bord des claires en prenant des précautions pour ne pas prendre trop de vase. Ils obtenaient ainsi une eau chargée de Navicules dans laquelle ils plaçaient des Huitres blanches. Des Huitres témoins étaient placées dans de l'eau de mer ordinaire : « Vingt-six heures après le commencement de l'expérience, les Huitres qui avaient séjourné dans l'eau chargée de Diatomées étaient toutes fortement colorées en vert ; les autres n'avaient subi aucun changement. Répétée à plusieurs reprises, l'expérience a donné des résultats identiques ; la coloration est d'autant plus intense que la proportion de

(1) Réservoirs creusés dans l'argile des lais de mer. La mer les envahit seulement aux vives eaux. Les Huitres y verdissent et y acquièrent d'abondantes réserves.

Diatomées contenues dans l'eau est plus considérable... Enfin l'expérience a pu être répétée à distance. Des Huitres blanches, expédiées à Paris, en même temps qu'un flacon contenant des Diatomées, ont verdi au Jardin des Plantes dans le Laboratoire de M. DECAISNE (1880). »

Les deux auteurs ne pouvaient que conclure à l'action de la Navicule bleue dans le verdissement des Huitres. Ce premier point, l'essentiel de cet important problème, était résolu. Il a cependant été discuté par la suite par des auteurs qui, n'étant pas à même, pour des raisons diverses, de refaire cette expérience, partaient d'autres observations, d'ailleurs très exactes, pour émettre des hypothèses s'opposant aux résultats acquis. Quand une expérience a été faite on ne devrait cependant jamais la révoquer en doute avant de l'avoir faite soi-même.

Cela prouve qu'on ne devrait jamais attacher une trop grande importance — l'importance qu'elles n'ont pas — aux hypothèses tirées de simples comparaisons. Ces hypothèses ne doivent être considérées que comme des indications pour des recherches directes.

Avant d'arriver aux auteurs qui ont révoqué en doute ces résultats, je dois en citer quelques-uns qui ont admis l'action de la Navicule, ainsi RYDER (J.-A.) en 1884, E. RAY LANKESTER en 1886 qui a fait une longue étude à ce sujet (je reviendrai plus loin sur son travail au moment de l'étude de la Biologie de la Navicule et du déterminisme de la fixation du pigment dans l'épithélium branchial et autres tissus), puis PELSENEER et BASHFORD DEAN en 1892. JOURDAIN en 1893, dans une Note où il y a de bonnes idées, comme on le verra plus loin, ne semble pas connaître les résultats obtenus avant lui. Il ne parle pas de la Navicule, HERDMANN (W.-A.), dans son Rapport de 1894, admet l'action de la Navicule.

C'est en 1892-1893 que Ad. CHATIN trouvant des Huitres vertes en l'absence de Navicules fixe son attention sur un autre fait. Ses analyses chimiques lui montrent que les argiles et les branchies des Huitres de Marennes contiennent une très grande quantité de fer. Il émet l'hypothèse de l'action du fer dans le verdissement. Cependant si l'on examine de près les résultats de ses analyses on constate qu'aux Sables d'Olonne et à Cancale, où il ne signale pas d'Huitres vertes, l'argile contient plus de sesquioxyde de fer qu'au Croisic et à Saint-Jean-de-Luz où il y a des Huitres vertes. Il ne tenta pas la vérification expérimentale.

D'ailleurs, en 1895, BORNET renouvela, en sa présence, les expériences qu'il avait faites avec PUYSEGUR. Ad. CHATIN fut obligé de reconnaître l'action de la Navicule.

KOHN compléta, pour ainsi dire, en 1896 et 1898 les analyses de Ad. CHATIN et MUNTZ, et montra par la méthode électrolytique, que les Huitres vertes analysées par lui, contenaient moins de fer dans leurs branchies que dans le reste de leur corps ; il trouva plus de fer dans les Huitres blanches américaines que dans les Huitres vertes de Marennes. HERDMANN tenta la vérification expérimentale de l'idée de Ad. CHATIN. Il éleva des Huitres dans des solutions de sels de fer, il n'obtint pas de verdissement.

C'est en 1895-1896 que CARAZZI reprend la question. Il fait de très intéressantes observations et expériences sur l'absorption du fer dans la coloration de certaines Huitres, observations sur lesquelles je reviendrai plus loin et, s'appuyant d'autre part sur les analyses de BERTHELOT et de Ad. CHATIN, il conclut à l'action du fer dans le verdissement. Pour lui, le fer est absorbé par les branchies et autres organes. C'est dans le protoplasma de l'épithélium et aux dépens de ce fer que se formerait la Marennine. Au cours de ses expériences sur l'élevage d'Huitres dans des solutions de sels de fer il n'a jamais pu obtenir le verdissement ; il n'a jamais mis en évidence du fer dans la Marennine. Il a maintenu, malgré cela, son hypothèse réfutant toutes les expériences qui avaient été faites jusqu'à ce jour.

C'est pourquoi, en 1907, SAUVAGEAU entreprend une étude sur le même sujet. Il refait les fameuses expériences de BORNET, PUYSEGUR et Ad. CHATIN. Il obtint le même succès.

En 1910, CALVET étudiant plus spécialement la Biologie de la Navicule, admet son action.

En 1914, C.-C. JOHN PETERSEN signale la présence au Danemark, en 1911-1912, d'Huitres vertes et de *Navicula Ostrearia*. Il semble bien qu'il n'a pas eu connaissance de tous les travaux publiés à ce sujet et en particulier du travail de SAUVAGEAU. Il conclut ainsi : « Néanmoins, il semble que les résultats ci-dessus énoncés contribuent à éclaircir cette question de la coloration en vert des branchies des Huitres. Ces expériences signifient, à mon avis, que, dans ce cas, la coloration n'est pas due à l'ingestion de *Navicula Ostrearia* mais qu'elle est due à la présence de matières en suspension dans l'eau . » Cette conclusion ne porte donc que sur le cas particulier observé par l'auteur.

En 1915-1916, PHILIP, H. MITCHELL et RAYMOND L. BARNEY signalent la présence simultanée d'Huitres vertes et de *Navicula Ostrearia* en divers points de la Baie de Chesapeake, aux Etats-Unis, et concluent nettement à l'action de la Navicule, car ils ont observé que les Huitres ne sont pas vertes en l'absence de *Navicula Ostrearia*.

Malgré cela, encore en 1925, SPÄRCK faisant quelques nouvelles observations émet une nouvelle hypothèse : « Ainsi je suis conduit à penser que la couleur verte est probablement due à des parasites intracellulaires, comme l'ont constaté PIERANTONI, BUCHNER, chez d'autres animaux... La présence imprévue dans certaines localités très restreintes du Fjord semble m'indiquer qu'un parasite est la vraie cause. »

En résumé, GAILLON a observé, en 1820, que sur les fonds où se trouvait le *Navicula Ostrearia*, les Huitres étaient vertes et qu'elle ne l'étaient pas en son absence. Pour lui, cette Navicule devait être la cause du verdissement. En 1877, BORNET et PUYSEGUR, puis BORNET et Ad. CHATIN en 1895, et enfin SAUVAGEAU en 1907 vérifièrent expérimentalement cette hypothèse en élevant des Huitres en présence de *Navicula Ostrearia*. Ces Huitres se pigmentèrent, alors que celles placées dans de l'eau sans Navicules ne se pigmentèrent pas.

Le problème était simple en somme ; il a été embrouillé à plaisir par des auteurs qui n'ont pas été à même de faire les expériences nécessaires ou qui n'ont pas assez longuement observé le phénomène dans la nature et ne s'en sont pas pénétré. Il y a là une leçon à tirer sur laquelle je n'insisterai pas.

RECHERCHES PERSONNELLES

Mon attention a été attirée sur le phénomène en faisant la réaction dite des « peroxydases » par la benzidine et je me préparais à rechercher le chromogène et le peroxyde. C'est dire que je suis parti d'une idée fausse.

Cependant, j'ai voulu tout d'abord savoir où en était la question, pensant bien que le phénomène avait été déjà observé. Ma première idée, après lecture de différents travaux, fut de refaire les expériences qui avaient été signalées comme concluantes.

Je les ai reproduites très exactement, recueillant avec une cuiller les Navicules sur le fond d'une claire verte, ou bien, pour prendre moins de vase, je passais légèrement la main sur le fond et recueillais l'eau trouble ainsi obtenue. Je faisais de même dans une claire qui n'était pas verte. J'ai obtenu les résultats des auteurs précédents. Les Huitres placées dans l'eau contenant des *Navicula Ostrearia* verdissaient et les autres ne verdissaient pas. En reproduisant telles qu'elles avaient été faites jusqu'ici ces expériences, je me suis aperçu que je ne mettais pas complètement à l'abri des critiques de CARAZZI. En récoltant les Navicules sur le fond de la claire on prend toujours une certaine quantité de vase et on peut dire qu'on a apporté ainsi dans les cristallisoirs les éléments du sol qui permettent le verdissement.

C'est pourquoi j'ai isolé complètement les Navicules en récoltant avec une assiette ordi-

naire la pellicule de *Navicula Ostrearia* qui est à la surface de l'eau dans le coin de la claire où le vent l'a poussée. Cette pellicule contient souvent, comme l'a fait remarquer SAUVAGEAU des poussières, des débris, etc. En ne la recueillant que dans certains endroits on peut avoir une eau assez propre et on se trouve à l'abri de la critique ci-dessus.

Voici les résultats d'une première expérience que j'ai faite dans ces conditions, à l'île d'Oléron.

Le 24 août 1924, je place :

3 *Gryphaea angulata* Lamk et 3 *Mytilus edulis* Linné dans un récipient de grès A, contenant de l'eau de claire très saturée en Navicules.

3 *Gryphaea angulata* et 3 *Mytilus edulis* dans les mêmes conditions ; récipient B.

3 *Gryphaea angulata* et 3 *Mytilus edulis*, dans un récipient C, contenant de l'eau prise à la mer.

Ces *Gryphaea* et ces *Mytilus* ont été pris dans les lots de ces mêmes Lamellibranches ne présentant aucune pigmentation spéciale.

Le 27 août, je remarque que l'eau se trouble dans le récipient B. Je la jette et la remplace par une eau obtenue comme la précédente. C'est en vue d'incidents de ce genre que j'ai disposé deux récipients A et B dans les mêmes conditions.

Le 29 août 1924, toutes les Huitres et les Moules sont ouvertes.

En C : Huitres et Moules sans modification de pigmentation.

En A et en B : toutes les Huitres et toutes les Moules sont bien vertes.

Une seconde expérience a complété la précédente. Au mois d'avril 1924, à l'île d'Oléron, j'ai recueilli une certaine quantité de la pellicule de Navicules à la surface de l'eau des claires. L'eau chargée de ces Diatomées ainsi obtenue a été mise dans une tourie. Au mois d'août, j'ai versé une partie de cette eau dans divers récipients au fond desquels s'est déposée une épaisse couche verte constituée par des frustules de Diatomées diverses, quelques débris et surtout par du pigment provenant du *Navicula Ostrearia* dont on ne trouvait plus que les frustules plus ou moins vides.

Cette eau, après quelques jours d'évaporation, s'est éclaircie.

Le 25 août, je mets 3 *Gryphaea angulata* non vertes dans l'un des récipients (D) et 3 du même lot dans de l'eau de mer ordinaire (E). Le 29, j'ouvre toutes les Huitres. En D, elles sont vertes et pas en E.

Avec cette même eau expédiée à Paris, j'ai répété cette expérience dans des cristallisoirs.

Le 27 septembre, je mets 3 *Gryphaea angulata* non vertes dans un cristallisoir (C) rempli de cette eau et 3 non vertes dans un cristallisoir (D) avec de l'eau de mer ordinaire.

Le 28 à 18 heures, c'est-à-dire vingt-huit heures après le début de l'expérience, les Huitres de C sont légèrement, mais nettement vertes.

J'ai voulu, plus tard, essayer d'isoler les Navicules de l'eau même dans laquelle elles vivaient. Pour cela je l'ai filtrée avec un filtre ordinaire en papier. Je me suis aperçu que l'eau de filtration était verte quoique sans trouble. Au bout de quelque temps je remarque sur le fond du cristallisoir contenant cette dernière, qu'une couche de matière organique bien verte s'est déposée. L'eau n'est plus colorée. Le pigment de la Navicule a passé au travers du papier. En effet, en versant de l'eau douce sur le dépôt de Navicules du filtre on augmente la coloration de l'eau filtrée. C'est un fait sur lequel je reviendrai d'ailleurs lors de l'étude de la solubilité du pigment.

Des Huitres blanches placées dans cette eau de filtration verdissent très rapidement.

Tous ces résultats nous permettent d'affirmer que c'est bien le pigment du *Navicula Ostrearia* Bory qui fait verdier les Huîtres et autres Lamellibranches.

Après cela, j'ai quitté mon idée de rechercher le chromogène et le peroxyde ; d'autres problèmes se posaient à moi.

Puisque le pigment de la Navicule provoque le verdissement, comment est-il absorbé ? Comment arrive-t-il aux branchies et autres organes pigmentés ? L'hypothèse de l'absorption intestinale suivie d'une excrétion leucocytaire semblait assez naturelle. Cependant elle demandait à être vérifiée. En outre, il était indispensable de connaître la nature et l'origine du pigment de la Navicule, et c'est alors tout le problème de la Biologie de celle-ci, absolument inconnue, qui était soulevé. J'ai par conséquent poursuivi simultanément ces deux études qui sont si intimement liées.

Avant de rechercher le déterminisme de l'absorption et de la fixation du pigment dans les tissus, nous allons rechercher celui de la formation de ce dernier pour essayer d'établir sa nature et son état afin de savoir comment il se présente à l'Huître.

b) Le « Navicula Ostrearia » Bory. — Sa biologie

Nous connaissons réellement peu de chose à son sujet. Il a été signalé en divers endroits ; on en a donné des descriptions assez bonnes quoique incomplètes ; l'étude chimique de son pigment a été faite ; de sa biologie on ne connaissait presque rien. C'est cependant, parmi l'innombrable quantité de Diatomées, la seule qui présente une telle pigmentation. Cette particularité aurait pu susciter des recherches.

L'étude du phénomène n'était donc qu'à la période des observations. Il fallait les poursuivre pour en augmenter le nombre. C'est ce que j'ai fait d'abord. Comme toujours, la comparaison de nombreuses observations ne permet que l'analyse du phénomène grâce à laquelle on élimine les facteurs non susceptibles d'intervenir et attire l'attention sur le ou les facteurs associés qui entrent en jeu. C'est là l'objet d'une hypothèse qui demande ensuite à être vérifiée expérimentalement.

Je vais donc rappeler les observations des auteurs qui l'ont étudié, avant de rapporter les miennes. Il ne faut pas les considérer comme un simple historique, mais plutôt envisager leur ensemble comme un seul bloc de l'examen duquel doit sortir l'hypothèse la plus vraisemblable. Encore une fois, c'est l'idée qui nous occupe.

En 1906, C. SAUVAGEAU a fait l'historique de la synonymie. Je ne m'en occuperai pas ici.

C'est GAILLON, en 1820, qui signale pour la première fois cette Diatomée dans des parcs à Huîtres de Dieppe : « En réfléchissant à cette idée, ma vue se fixa attentivement sur la valve supérieure d'une Huître verdissant dans un parc ; j'aperçus à sa surface des agglomérations de petits points d'un vert foncé brillant », et au microscope il remarque « des milliers d'animalcules gélatineux, linéaires, pointus aux extrémités, arrondis au centre, contractiles dans cette partie, chargés de matière verte, mobiles et doués d'une vélocité admirable d'impulsion et de rétrogradation » (1824, p. 138). Il remarqua ces mêmes accumulations d'animalcules verdâtres sur les cailloux, sur les plantes marines : « la laise verdâtre qui garnit la partie inférieure du talus des parcs, » puis, « les flocons noirâtres qui flottent comme une écume confervoïde à la surface des mêmes parcs » en sont constitués.

Il a remarqué qu'elles « pullulent d'une manière si étonnante que si l'on s'abstient pen-

dant un mois de renouveler l'eau des parcs en verdure, elle prend une couleur si foncée qu'elle ressemble au liquide d'une cuve de teinture. » (1824, p. 140.)

En 1820, il concluait : « Il reste maintenant à découvrir si cet animal est dû à la nature du sol, pourquoi il ne se trouve pas dans tous les parcs ; quel est le degré d'influence météorique nécessaire pour son développement ? » puis en 1824 : « L'existence de cet animalcule et son action nutritive et colorante pour les Huitres ne pouvant plus être révoquée en doute, c'est à rechercher les lieux qu'il habite et à étudier le concours positif des causes qui le produisent qu'on doit maintenant s'attacher. » Il posait ainsi le problème biologique soulevé par sa découverte.

De nombreux auteurs qui ont parlé, par la suite, du verdissement des Huitres n'ont rien apporté de nouveau sur le *Navicula Ostrearia*.

BORNET et PUYSEGUR (1877), le découvrent à nouveau, pour ainsi dire, dans les claires à Huitres du Croisic ; ce dernier, en 1880, relate leurs observations communes. Il termine par deux questions qui correspondent à peu de chose près au problème déjà posé par GAILLON :

1^o « La *Navicula fusiformis ostrearia* existe-t-elle en tous temps dans les claires où on la trouve en hiver ?

2^o La coloration qui, pendant le temps de la verdure des claires, révèle sa présence n'est-elle qu'accidentelle et momentanée ? En un mot, cette Algue disparaît-elle complètement des réservoirs quand les eaux changent de couleur, ou perd-elle seulement sa coloration à ce moment ? » (1880, p. 256.)

PUYSEGUR donne un bon dessin de cette Navicule, malgré son faible grossissement.

En 1886, RAY LANKESTER la figure et en donne une bonne description bien que les Navicules qu'il se faisait expédier du Croisic étaient pour la plupart en dégénérescence lorsqu'il les recevait. Il fait l'étude chimique et spectroscopique du pigment qu'il propose d'appeler « Marennine ». Il n'apporte rien de nouveau concernant sa biologie.

BORNET, en 1895, déclare toujours, après en avoir donné une description rapide : « On ne sait pas si le pigment bleu existe toujours dans la Navicule huitrière ou s'il ne s'y développe qu'à certains moments et dans certaines conditions. Il faudrait les cultiver pour s'en assurer : les essais de culture que nous avons faits à Paris, d'après le procédé de M. MIQUEL, n'ont pas réussi ».

En 1903, HANS MOLISCH qui n'en a observé que quelques exemplaires ne croit pas à une coloration accidentelle mais spécifique.

C'est en 1906 que SAUVAGEAU la signale dans la Méditerranée, puis, en 1907, qu'il étudie la question du verdissement des Huitres à La Tremblade. Il rappelle la grande irrégularité de l'apparition, de la disparition et de la répartition de cette Navicule, puis les observations des Ostréiculteurs sur les influences qui semblent intervenir dans son développement. Malgré tout, nous trouvons encore comme conclusions : « Nous sommes tellement ignorants sur la biologie des différentes espèces de Diatomées des claires, sur les conditions favorisant ou entravant leur multiplication sur leur plus ou moins grande motilité, sur le remplacement des unes par les autres concordant avec les changements saisonniers ou météorologiques, qu'il est actuellement difficile de prévoir dans quelles limites les organismes habitant l'épaisseur de la couche d'eau sont mieux utilisables » et : « pour perdre le minimum de verdure tout en renouvelant l'eau, il y aurait un certain nombre de précautions à observer, actuellement impossibles à préciser à cause de notre ignorance de la biologie du *Navicula Ostrearia*. Je veux simplement indiquer aux éleveurs la complexité de la question ».

En 1909, LOUIS CALVET apporte une contribution spéciale à cette étude. Des Huitres

vertes ayant été importées de Marennes à Balaruc-les-Bains, dans l'Hérault, il a constaté la présence de *Navicula ostrearia* puis leur disparition et quelque temps après leur réapparition. Il dit avoir obtenu des cultures de Navicules bleues dans de l'eau de mer filtrée de densité 1016, les cristallisoirs étant exposés en pleine lumière, sans insolation. Il a étudié seulement l'action de la température, de la salinité, de la hauteur de l'eau, nature du sol, éclaircissement sur le *Navicula* puis sa distribution bathymétrique. Il conclut : « Telles sont les quelques contributions à la connaissance du verdissement qu'il m'a été permis de vous présenter aujourd'hui. Elles ne résolvent pas le problème si complexe du verdissement et ne constituent qu'un simple acheminement vers la solution. »

Enfin, en 1917, P.-H. MITCHELL et R.-L. BARNEY signalent la présence de *Navicula Ostrearia* et le verdissement des Huîtres, dans la baie de Chesapeake. Ils cherchent à relier la présence de la Navicule à la température et à la densité de l'eau. Ils en donnent une bonne description. Après BORNET, ils ont essayé d'en faire des cultures et cette fois sur des milieux très variés, mais sans résultat. J'y reviendrai d'ailleurs plus loin. Ils citent CALVET, sans parler des cultures de celui-ci.

Ainsi le problème posé par GAILLON en 1820 et 1824 reste tout entier. La question essentielle qui est de savoir si le pigment bleu de la Navicule est spécifique ou acquis n'a pas été résolue. La réponse permettrait probablement de nous faire pénétrer plus avant dans la connaissance de son évolution.

Avant d'en poursuivre l'étude, je vais faire la description aussi complète que possible du *Navicula Ostrearia* en apportant quelques modifications ou additions à celles qui ont déjà été données.

Remplissons un cristallisoir d'eau de mer de Navicules bleues. Au bout de quelques heures, nous voyons qu'elles se sont, en grande partie, déposées et qu'elles forment une pellicule tant sur les parois que sur le fond. Si on gratte avec une pointe sèche, on voit que cette pellicule est homogène et, en agitant l'eau, on la voit se détacher par lambeaux.

L'examen microscopique montre que cette pellicule est formée de mucilage sécrété par les Navicules et dans lequel elles sont agrégées, tout en s'y déplaçant assez bien et pouvant en sortir.

Comment est sécrété ce mucus ? La constitution de la carapace va nous l'apprendre. Elle est connue depuis les belles observations de L. MANGIN sur les Diatomées. Je cite textuellement cet auteur : « Chez les Diatomées la partie organique de la membrane est constituée par des composés pectiques à l'exclusion de la cellulose et de la callose. Ce qui distingue les Diatomées des autres plantes... Il y aurait donc lieu de distinguer, dans la membrane, deux parties qui se pénètrent plus ou moins : un squelette siliceux nettement combiné avec la substance pectosique de la membrane et constituant tous les ornements que révèle l'examen microscopique des valves calcinées, puis une matière pectosique libre qui, tout en pénétrant le squelette siliceux, forme à la surface des valves une membrane externe pectosique... »

« ... La constitution de la membrane, telle qu'elle vient d'être décrite, explique tout naturellement la formation de la gelée qui entoure chaque individu ou qui se localise en des points plus ou moins étendus de la surface.

« Les composés pectiques sont en effet caractérisés, comme on le sait, par la facilité avec laquelle ils se transforment en mucilage ; puisque les valves sont revêtues d'une membrane externe, le plus souvent dépourvue de silice, il n'est pas difficile d'admettre que la partie externe de cette membrane est susceptible d'absorber l'eau et de se gonfler en donnant naissance à un mucilage plus ou moins épais. »

Tel est, en particulier, le processus de la sécrétion de la pellicule mucilagineuse par le *Navicula Ostrearia* lorsqu'il se trouve dans des conditions spéciales que je préciserai plus loin.

Cette Navicule atteint en longueur comme en largeur des dimensions variables.

RAY LANKESTER note : Longueur $1/270$ inch et la plus grande largeur $1/7300$ inch. Mais MITCHELL fait justement remarquer que, pour cette dernière dimension, il doit y avoir eu une erreur typographique et il note les dimensions suivantes : Longueur $1/200$ à $1/300$ inch ; largeur $1/200$ à $1/2,500$ inch. Plus loin il exprime en μ ses observations :

Longueur : 131μ 99μ 93μ 128μ .

Largeur : 12μ 8 9.6 9.1 11.6

HANS MOLISCH donne les dimensions suivantes :

Longueur : 75μ 67μ 89μ 62μ

Largeur : 5μ 4 5.4 6.8 5.3

Parmi celles que j'ai observées les plus grandes avaient :

Longueur : 90μ 2 ; largeur : 8μ 7 .

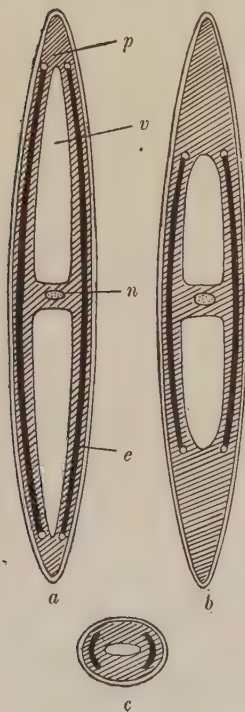


FIG. 1.

Navicula Ostrearia Bory
(figure semi-schématique).

a Navicule dépigmentée ;

b Navicule pigmentée ;

c Coupe au niveau d'une
vacuole ;

e endochrome ;

p protoplasma ;

v vacuole ;

n noyau.

A l'intérieur de la carapace on remarque deux plaques symétriques, les endochrômes, de couleur jaune-brunâtre. Elles occupent presque toute la longueur du frustule chez les Navicules sans pigment et seulement la moitié centrale chez celles qui sont pigmentées. On trouve tous les intermédiaires.

A chacune des extrémités des deux endochrômes on remarque une granulation quelquefois pigmentée. Souvent, mais plus rarement, on trouve sur toute la longueur des endochrômes et sur leur face interne d'autres granulations dont certaines sont colorées.

MERESCHKOWSKY les a signalées et figurées en 1901. Ce sont les « elæoplastes » de cet auteur et les « gouttelettes huileuses » des autres. Le nombre des « elæoplastes » varie ainsi que leur disposition. Si on regarde la Navicule de face on voit, au centre, une région plus réfringente dans laquelle se trouve le noyau. C'est le protoplasma central qui réunit les deux bandes protoplasmiques enveloppant les deux endochrômes. De chaque côté de ce protoplasma central et entre les deux bandes pariétales se trouve une « vacuole » (1). Il y a donc deux « vacuoles » qui s'étendent presque jusqu'aux extrémités lorsque la Navicule est dépigmentée et qui se réduisent de plus en plus à mesure que la Navicule se pigmente, le protoplasma des extrémités se développant à ce moment. Les « vacuoles » figurées par quelques auteurs sont des granulations qui apparaissent dès le début de la dégénérescence. La description que je donne ici est inspirée de celle de *Navicula radiosa* Kutz., par HEINZERLING OTTO. (1908, p. 66.)

Si on regarde la Navicule de profil, on remarque que l'endochrome n'occupe pas toujours toute la largeur.

Voyons maintenant comment se présente le pigment. Tous les auteurs, BARNET, RAY LANKESTER, SAUVAGEAU (1907), s'accordent

(1) On devrait plutôt dire gouttelette, car, en réalité, c'est une gouttelette d'un liquide non miscible avec le protoplasma.

à dire qu'il imprègne le protoplasma et non les « vacuoles ». MOLISCH regrette de n'avoir pu examiner attentivement la question et dit : « M. RAY LANKESTER mentionne que la matière bleue de la Diatomée, à laquelle il donne le nom de Marennine, a son siège dans le protoplasma et non dans les vacuoles ; cette assertion serait fort intéressante à vérifier car, autant que je sache, on ne connaît aucun protoplasma bleu dans le règne végétal. » En 1901, MERESCHKOWSKY, qui en a donné une bonne définition, dit seulement : « le contenu de la cellule est coloré en un joli bleu de ciel foncé », sans préciser la localisation. Mais, d'après HEINZERLING OTTO (1908), dans son travail de 1903, MERESCHKOWSKY dit bien qu'une substance colorante bleue est contenue dans le cytoplasma tandis que le suc cellulaire (vacuole) est sans couleur. Or, de cet auteur, il y a deux travaux en 1903 sur les Diatomées. Il n'y a rien sur la question dans « Scripta botanica » ; il s'agit probablement de « Zur Morphologie der Diatomeen », Kasan, 1903 que je n'ai pas pu trouver.

Je puis affirmer que le pigment colore bien le protoplasma et non les vacuoles.

On trouve des Navicules plus ou moins bleues. Quelques auteurs, sans insister, ont noté la présence de Navicules dépigmentées en se demandant si c'était bien la même espèce que l'autre. Comme on le verra plus loin, il y en a en effet, sans aucun pigment. En général, il colore uniquement et d'une façon homogène le protoplasma des deux pointes. Il peut atteindre quelquefois l'extrémité des endochrômes, la dépasser même et alors pénétrer entre les deux. Vers l'intérieur il se termine soit brusquement, soit en s'estompant. Souvent, tout le protoplasma est coloré ; vues de profil, les deux extrémités aussi bien que deux bandes latérales de chaque côté de l'endochrôme sont pigmentées. Beaucoup de granulations le sont également. (Voir les figures I, II, III et XV de la planche en couleurs.)

Je pourrais compléter cette description par l'étude chimique du pigment. Je préfère la poursuivre quand nous connaissons l'origine de ce dernier. C'est de cette origine que je vais m'occuper maintenant.

Si le pigment est acquis on doit trouver des Navicules qui en sont complètement dépourvues et même arriver à leur faire perdre lorsqu'elles en possèdent. Dans ce cas, les Navicules pigmentées doivent se trouver dans des conditions spéciales ; lorsque ces conditions ne sont plus réalisées elles doivent se dépigmenter. J'ai donc suivi attentivement ce qui se passait lorsque des claires déverdissaient.

Le pigment du « *Navicula ostrearia* » est acquis et non spécifique

Nous avons vu plus haut que les Navicules se réunissaient en grande partie sur le fond du cristalliseur dans lequel elles avaient été mises en s'agréant dans une pellicule homogène de mucilage qu'elles sécrétaient. Il en reste cependant toujours dans l'eau. On peut se rendre compte, dans les claires et les bassins verts, que le fond est tapissé d'une pellicule homogène semblable. Une claire peut déverdir brusquement. On ne trouve plus alors que des frustules de Navicules ou des Navicules mortes contenant encore leurs endochrômes dégénérés et le protoplasma plus ou moins granuleux. Le mucilage ne retient plus entre eux ces frustules. Les claires peuvent aussi déverdir lentement. Dans ce cas, on observe que la pellicule primitive cesse progressivement d'être homogène et, à côté de Navicules mortes, on en trouve dont le pigment s'atténue et d'autres sans pigmentation aucune. Ces dernières, paraissant en parfait état physiologique, sont mobiles et ne restent plus fixées au mucilage. Si la mer envahit alors la claire, en moins de vingt-quatre heures toutes les Navicules disparaissent.

D'autre part, lorsqu'il y a insolation, des lambeaux de mucilage avec les Navicules sont soulevés par les bulles d'oxygène qui se dégagent. Le vent pousse ensuite, dans un des coins de la claire, les nombreuses Navicules venues ainsi à la surface de l'eau. J'ai pu suivre attentivement le phénomène dans une claire encaissée qui avait été délaissée. L'eau n'ayant pas été renouvelée les Navicules ainsi groupées sur le bord de la claire étaient soumises au clapotis et beaucoup étaient retombées sur le fond. J'ai trouvé, à cet endroit, des Navicules se dépigmentant et un assez grand nombre ayant complètement perdu leur pigmentation.

Dans tous ces cas, ce n'était pas une dépigmentation en masse et la présence de ces quelques Navicules au milieu d'un très grand nombre de frustules pouvait faire croire à quelque cas particulier et non à un phénomène normal, bien que leur grande vitalité ne semblât pas venir à l'appui de cette hypothèse. Il faut remarquer qu'ici les conditions du milieu sont devenues défavorables, et il est tout aussi logique de dire qu'elles ne se dépigmentent pas toutes par suite précisément des mauvaises conditions.

Il était nécessaire de les voir se dépigmenter en masse dans des conditions normales. J'ai cherché à suivre le phénomène en pleine mer, sur des fonds qui découvrent à chaque marée ou presque et où elles se développent depuis quelques années seulement. Voici ce que j'ai observé :

Dans une région de la côte où les viviers (parcs en mer) étaient remplis d'Huitres et dont le fond était en même temps couvert de Navicules bleues, l'un d'eux est pêché. Je passe deux jours après. Alors que le fond des viviers environnants est encore bien vert, je remarque, dans celui qui n'a plus d'Huitres des zones verdâtres et d'autres franchement jaunes. Je fais des prélèvements et l'examen microscopique me montre, par la suite, que les Navicules des zones jaunes ont perdu leur pigment. Beaucoup ne sont que faiblement bleues. Elles présentent une très grande vitalité. Il y en a très peu de mortes. Le mucilage se désorganise nettement. Je reviens le lendemain, il n'y a plus aucune trace de Navicules. L'argile est à nu. La mer a complètement lavé le fond. Les viviers environnants sont toujours parfaitement verts.

J'ai donc bien assisté, dans la nature, à une dépigmentation normale en masse des Navicules. Il ressort de ces observations que le pigment bleu du *Navicula Ostrearia* est acquis, accidentel. Dès que les conditions requises ne sont plus réalisées les Navicules se dépigmentent. Mais alors elles ne restent plus fixées au sol par l'intermédiaire du mucilage qu'elles ne sécrètent plus. Elles redeviennent pélagiques. C'est pourquoi il est si rare de trouver des *Navicula Ostrearia* en masse sans coloration sur le fond.

A l'état normal cette Navicule est donc dépigmentée et pélagique, planctonique. Elle ne devient benthonique et pigmentée que dans certaines conditions. Cet exemple n'est pas unique. On a signalé d'autres Diatomées qui, vivant sur le fond à certaines périodes, deviennent pélagiques ensuite.

On peut se demander maintenant si cette Navicule pélagique n'a pas été décrite sous un autre nom qui serait seul à conserver, la Navicule pigmentée n'étant même pas une variété. Le phénomène n'est en effet qu'une particularité biologique de l'espèce.

Déterminisme de la pigmentation du « *Navicula Ostrearia* »

a) *Analyse du phénomène.* — Puisque le pigment du *Navicula Ostrearia* est acquis, accidentel, il s'agit maintenant de chercher les conditions qui déterminent sa genèse, c'est-à-dire les conditions de la fixation de cette Navicule sur le fond ainsi que de son activité particulière.

Voyons où et dans quelles conditions on l'a signalée.

On l'a rencontrée sur tout le littoral français : à Saint-Jean-de-Luz, à Arcachon d'où j'en ai reçu il y a deux ans ; dans toute la région de Marennes et de l'île d'Oléron ; au Croisic ; dans le Morbihan où elle se développe abondamment depuis quelques années ; à Ambleteuse, près de Wimereux, dans le Pas-de-Calais. Partout on l'a trouvée sur des fonds huîtres. En général, on l'a remarquée dans les claires ou les parcs établis sur la côte qui sont plus ou moins à l'abri du va-et-vient de la mer. Mais depuis quelques années, elle se fixe sur les fonds en pleine mer, dans la région de Marennes. Déjà en 1907, SAUVAGEAU disait : « Depuis quelques années... Les Portugaises des parcs de Saint-Trojan, en particulier, y verdissent plus régulièrement, bien qu'elles soient placées dans les viviers ». Et, en effet, depuis cette date les viviers de Saint-Trojan en pleine mer verdissent tout aussi bien que les claires. D'ailleurs son aire de répartition dans cette région s'est encore étendue. Quelques années après son apparition à Saint-Trojan, elle s'est développée dans les viviers jusqu'à la digue d'Ors où elle vient jusque sur le bord de la côte, quelques années après elle atteignait le chenal du château d'Oléron et enfin depuis trois ou quatre ans, elle se développe même au delà du chenal, en particulier sur les parcs du « Petit-Rocher », où j'ai fait mes observations sur la dépigmentation en masse.

En 1910, CALVET les a signalées en grand nombre dans les parcs où étaient déposées, depuis quelques mois, des Huîtres vertes venant de Marennes. D'après lui, elles se sont développées aux dépens de celles qui se trouvaient sur les Huîtres importées.

En 1914, C. G. JOHN PETERSEN note leur présence dans un Bassin du Limfjord (Danemark), en 1911 et 1912. En 1924 R. SPÄRCK dit que les Huîtres ont verdi en 1921 dans tout le Limfjord. Il s'agit à nouveau de régions ostréicoles.

En 1917, MITCHELL et BARNEY les signalent en Virginie et rappellent qu'en 1912 il y en avait au même endroit. Ici c'est encore une région ostréicole.

Dans toutes ces régions huîtrières le *Navicula Ostrearia* se trouve en quantités considérables.

En 1903, HANS MOLISCH en trouve quelques exemplaires à Trieste sur la coquille d'un *Pinna nobilis*.

En 1906, SAUVAGEAU en récolte en plus grand nombre à Banyuls-sur-Mer, sur des *Liebmannia*.

En 1919, C. FUNK rappelle qu'il en a trouvé en avril 1913 dans la baie de Nisita, en août 1913 à Bacoli (golfe de Pozzuoli) et en mai 1914 à Amalfi (golfe de Salerno), c'est-à-dire aux environs de Naples. Dans tous les cas cette Navicule était sur des *Padina pavonia*.

Je dois rappeler aussi que GRÜNOW la signale en 1877 à Marseille (envoi de LINDIG) et à Trieste (envoi de HAUCK), sans préciser dans quelles conditions.

De ces seules observations, il ressort que, si la Navicule bleue se rencontre en épiphyte sur quelques algues, le milieu où elle se fixe et se pigmente le plus abondamment paraît être les fonds sur lesquels sont déposées de grandes quantités d'Huîtres.

Mais il y plus. Des Ostréiculteurs ont remarqué que, la Navicule bleue n'étant pas encore apparue, les claires remplies d'Huîtres verdissent beaucoup plus vite que celles qui n'en ont pas, à condition que la nature physique du sol soit la même, comme je l'ai montré dans une note récente.

Les fonds marins étant déjà verts, la mer envahissant les claires, apportera des Navicules bleues en grand nombre et deux claires contiguës pourront verdir en même temps sans qu'on aperçoive une différence pour celle contenant des Huîtres.

J'ai remarqué moi-même, bien des fois, le fait que je signale ; l'année dernière j'ai pu le

constater dans une série de claires à l'île d'Oléron. Celles-ci nettoyées et séchées avaient été remplies d'eau à nouveau au mois de mai. Dans quelques-unes seulement des Huitres y furent étendues. Le développement des Navicules a été beaucoup plus rapide dans ces dernières. Les autres sont restées plus de huit jours sans Navicules.

Au mois de juin 1926, j'ai observé le fait suivant : Un bassin cimenté où l'eau vient presque à chaque marée est complètement nettoyé. On met des Huitres dans un coin seulement. Les Navicules bleues apparaissent d'abord sur les Huitres, puis forment un cercle vert tout autour du tas. Ce cercle va s'élargissant et finit par couvrir tout le fond du bassin. La pigmentation reste beaucoup plus dense sur les Huitres et aux environs immédiats.

Il y a trois ans, à Boyardville, dans l'île d'Oléron, sur les bords d'un chenal où l'on n'avait jamais remarqué la présence de la Navicule bleue, on a transformé des marais salants en claires, où l'on a mis des Huitres. J'ai pu constater que le fond des claires se couvrait de Navicules l'année même du dépôt des Huitres.

Tous ces faits s'ajoutent aux précédents pour montrer que la fixation sur le sol de la Navicule, normalement planctonique, et sa pigmentation sont intimement liées à la présence des Huitres.

Qu'est-ce que l'Huitre apporte donc pour provoquer une telle évolution du *Navicula Ostrearia*? Pour nous guider dans cette recherche et pour compléter notre analyse voyons s'il n'y a pas chez des Diatomées ou chez d'autres algues des phénomènes particuliers de pigmentation et à quoi ils sont dus.

En 1909, J. COMÈRE, dans une note très intéressante, nous fait part de ses observations en ces termes : « Certaines espèces d'eau douce de ces Algues siliceuses, assez rares cependant, présentent normalement ou anormalement une coloration différente de la teinte habituelle. Cette particularité est, dans quelques cas, constante ; dans d'autres circonstances, elle paraît provenir d'un ralentissement des fonctions biologiques des plantes ; en troisième lieu elle peut être attribuée, surtout en ce qui concerne les formes épiphytes et ainsi que je me suis proposé d'essayer de le démontrer dans la présente Note, à l'action spéciale du milieu et, par la suite, aux conditions particulières de la végétation. » Il cite, d'après d'autres auteurs, plusieurs exemples parmi lesquels le *Navicula Ostrearia*. Il fait part ensuite de ses observations personnelles que je résume ici. En 1903, il a récolté, dans le Canal du Midi, une forme d'*Oscillatoria* portant des *Epithemia* dont le contenu cellulaire était d'un beau vert émeraude. Le milieu était très riche en matières organiques dissoutes et les deux plantes se trouvaient en état de végétation intense.

Au Jardin des Plantes de Toulouse, il a trouvé un grand nombre d'*Epithemia turgida* Kütz, et d'*Ep. zebra* Ehrenb., épiphytes sur la face inférieure de feuilles de *Nymphaea alba*. La plupart des Diatomées présentaient une belle teinte verte. Sur les feuilles mortes et jaunes du *Nymphaea* les Diatomées étaient incolores. Il coupe une feuille de *Nymphaea* et la place dans un cristalliseur. Les Diatomées perdent leur pigment en même temps que la feuille jaunit.

En 1907, il trouve des *Amphora ovalis* Kütz, forma minor, colorés en beau vert comme les *Ulothrix subtilis* Kütz qui les portaient. Quand l'activité végétative de ces dernières se ralentit, les *Amphora* reprennent leur couleur brun-jaune habituelle. Et voici sa conclusion : « Dans les milieux pauvres en matières organiques dissoutes, les espèces de Diatomées épiphytes, que je viens de citer, ne m'ont jamais présenté la coloration verte... Les modifications qui surviennent ainsi dans la coloration des Diatomées épiphytes pourraient donc être attribuées à une formation supplémentaire de leucites verts, due à la nature plus nutritive du

milieu et qui masquerait le pigment jaune brun alors que dans les conditions ordinaires, le pigment supplémentaire prédomine sur le pigment chlorophyllien.

« Mais, à côté de cette hypothèse qui paraît plausible, il serait peut-être permis d'attribuer aussi, dans le cas spécial qui nous occupe, une influence particulière à la plante qui sert de support à la Diatomée épiphyte... De plus, la coloration verte des Diatomées épiphytes ne se montre que lorsque la plante support est en pleine végétation et elle n'apparaît pas chez les Diatomées libres placées dans les mêmes conditions de milieu ».

Qu'elle vienne du milieu ou de la plante en pleine végétation, la Diatomée épiphyte est en présence d'une matière organique abondante qui serait l'origine de sa coloration anormale.

Il vient alors naturellement à l'idée que les Huitres doivent apporter la matière organique qui, par un véritable chimiotactisme, entraîne la fixation sur le fond du *Navicula Ostrearia* puis sa pigmentation anormale. Voyons sous quelle forme se présente cette matière organique.

Dans une note récente (1926) j'ai eu l'occasion de montrer comment les Huitres (comme tous les Lamellibranches d'ailleurs) filtraient l'eau dans laquelle elles se trouvaient : l'argile en suspension est agglomérée en grumeaux par du mucus sécrété par les branchies et les palpes, grumeaux rejetés peu après à l'extérieur. J'y signale que VIALLANES évalue la matière organique sécrétée par une Huitre aux quatre centièmes de l'argile précipitée. Or, une portugaise de 18 mois, dans une eau additionnée de 0 gr. 0546 d'argile par litre, en précipite 1 gr. 075 en vingt-quatre heures.

Dans la région de Marennes, par exemple, il y a sur les fonds ostréicoles, dans une zone assez réduite en somme, des dizaines de millions d'Huitres. On voit quelle quantité considérable de matière organique peut être ainsi déposée sur les fonds au bout d'un certain temps.

J'ai montré aussi que, dans les régions abritées, ce mucus contribuait à la fixation de l'argile, mais que dans les régions où les courants sont violents la mer entraîne les grumeaux qui viennent se déposer dans les baies plus tranquilles et dans les claires en particulier. Cette matière organique est envahie par les Protozoaires, des algues unicellulaires et surtout par les bactéries qui y atteignent un certain développement en rapport avec la salinité de l'eau.

J'ai signalé que tous les Lamellibranches sécrétaient du mucus. L'observation de HANS MOLISCH rentre donc dans le cas précédent. Quant à la présence de *Navicula ostrearia* sur des *Liebmannia* et sur des *Padina* elle peut se rapprocher des observations de COMÈRE et nous verrons plus loin l'origine probable de la matière organique dans tous ces cas.

b) *Synthèse ou vérification expérimentale.* — J'étais arrivé ainsi à une hypothèse qu'il s'agissait de vérifier. Il fallait donc provoquer expérimentalement la pigmentation du *Navicula Ostrearia* à partir du mucus sécrété par des Huitres. Il m'a fallu faire bien des essais avant de vaincre toutes les difficultés qui se présentaient.

La vérification expérimentale d'une hypothèse est toujours délicate parce qu'il est très difficile de réaliser toutes les conditions naturelles d'un phénomène. Cependant elle est nécessaire si l'on ne veut pas perdre son temps à discuter sur les mêmes faits en les associant dans tous les sens. Le résultat auquel elle conduit vaut bien la peine de s'y consacrer entièrement.

Plaçons dans un cristallisateur contenant de l'eau dans laquelle on a délayé de l'argile, un certain nombre d'Huitres. On ne peut ajouter qu'une quantité d'argile relativement faible car, en cristallisateur, les bactéries se développent rapidement et beaucoup plus complètement qu'à la mer. C'est un fait connu qui a été signalé et sur les causes duquel on discute encore. L'eau du cristallisateur se trouble et devient impropre à l'élevage.

D'autre part, ayant mis peu d'argile, il est nécessaire d'aérer constamment l'eau pour que les Huitres puissent vivre normalement. L'activité des branchies se ralentit en effet à mesure que la quantité d'oxygène diminue dans l'eau. Malgré tout, les Huitres ne sécrètent pas la même quantité de mucus qu'à l'état naturel.

Voici les résultats que j'ai obtenus en prenant toutes les précautions indiquées. J'ai introduit dans un cristalliseur préparé comme je viens de le dire, une certaine quantité de Navicules dépigmentées avec d'autres Diatomées variées. L'examen microscopique montrait, avant l'expérience, la prédominance de ces dernières. Trois jours après, une prise sur le fond indiquait que les Diatomées étrangères dégénéraient tandis que les *Navicula Ostrearia* devenaient prédominants. C'est exactement ce qu'on observe au début du verdissement dans une claire. Le lendemain la prédominance était plus nette et de nombreux *Navicula Ostrearia* présentaient un commencement de pigmentation.

Je n'ai pas pu poursuivre plus avant cette expérience. Mais le résultat est tout de même assez net.

Partant de ces faits, on peut facilement expliquer certains caractères très particuliers de la Biologie de la Navicule, l'action des conditions atmosphériques, de la nature du sol, etc.. J'ai exposé ces conséquences dans mon travail préliminaire paru dans la *Revue Algologique* de 1926, t. III. Ici elles ne seraient pas à leur place, n'étant pas nécessaires pour la suite.

Seconde partie de la recherche

Je suis allé plus avant dans l'étude du phénomène et d'abord de l'analyse.

Quelle est la nature chimique de ce mucus sécrété par les Huitres? Comment peut-il agir?

On sait que le mucus des Némertiens, Mollusques, Poissons, Amphibies, etc., est formé principalement de mucines vraies qui sont des glycoprotéides, combinaisons d'albumines ou de globulines avec des molécules de sucres ou d'amidosucres et dont l'hydrolyse donne des sucres réducteurs : Glucose, Glucosamine, Galactose, Galactosamine.

GORKA (1916) trouve, dans le mucus des branchies de l'Anodonte et de l'Unio, des enzymes capables de digérer des polysaccharides, glucosides et graisses et dans le mucus des palpes il trouve une protéase. C.-M. YONGE (1926) ne trouve aucun enzyme dans le mucus, même de l'*Ostrea edulis*. Je ne connais aucun travail spécial sur le mucus des Huitres. Par contre, on a des renseignements précis sur la mucine des *Mytilus* depuis la thèse de HENRI MARCHAND (1916). Voici ce qu'il dit p. 105 : « Mais une remarque s'impose immédiatement, c'est que la moule renferme en assez grandes proportions une substance visqueuse, la mucine, substance qui est un glycoprotéide susceptible de donner par hydrolyse acide un corps réducteur (glucosamine)... Il était utile, au contraire, de chercher à déterminer en quelles proportions entrait la mucine dans le sucre combiné total de la moule ou, plus exactement, de chercher à savoir ce que deviendrait la teneur en sucre combiné de la moule après en avoir retranché le sucre (plus exactement glucosamine) susceptible d'être apporté par hydrolyse de la mucine ».

Il isole la mucine d'un lot de moules et en trouve 74 gr. 347 pour 1.000 et il ajoute : « Mais à quelle quantité de corps réducteur ce chiffre correspond-il? Il n'existe pas une mucine mais des mucines, et si Müller a trouvé autrefois que celle des glandes salivaires de l'homme donne par hydrolyse 23,5 pour 100 de glucosamine réductrice, il n'en est pas forcément de même pour la mytilomucine. D'où la nécessité d'une nouvelle détermination : celle de la quantité de glucosamine fournie par hydrolyse de la mytilomucine.

« Opérant à plusieurs reprises sur la mucine, supposée pure, extraite par notre procédé, nous avons trouvé 12 pour 100... Bref, les 74 gr. 347 pour 1.000 de mytilo-mucine seraient correspondants, en admettant le chiffre de 12 pour 100, à 8 gr. 916 pour 1.000 de glucosamine réductrice ».

J'ai pensé tout d'abord que l'action des bactéries sur cette matière organique devait mettre de l'azote à la disposition des Navicules et que leur pigmentation pourrait bien être due à la présence de sels ammoniacaux ; j'ai alors tenté sur mes cultures l'action à diverses concentrations du Nitrate de soude, du Nitrate d'Ammoniaque et du Tartrate d'Ammoniaque qui provoquaient rapidement leur dépigmentation contrairement à ce que j'attendais.

Puis mon attention a été attirée sur la présence de sucre dans le mucus et on peut admettre que les bactéries qui acquièrent un certain développement en rapport avec la salinité de l'eau, libèrent le sucre de sa combinaison albuminoïde en s'attaquant à l'autre partie de cette dernière.

On connaît l'action des sucres sur le pigment des algues inférieures en particulier, surtout depuis les travaux de L. MATRUCHOT et M. MOLLIARD sur le *Stichococcus bacillaris* (1902). Voici ce que dit M. MOLLIARD : « Les différentes substances organiques agissent sur cette algue pour modifier soit l'intensité de son développement, soit sa couleur... La couleur naturelle du *Stichococcus* est plus ou moins modifiée lorsque l'Algue se développe en présence de diverses substances organiques et on peut à cet égard distinguer quatre catégories de teintes :

1° Les disaccharides laissent au *Stichococcus* sa teinte naturelle, la glycérine et la mannite lui donnent une teinte plus foncée. ;

2° En présence de la dextrine, de l'inuline, de l'amidon, le *Stichococcus* acquiert une couleur verte tirant sur le bleu ;

3° La peptone lui fait acquérir une teinte olive très caractéristique ;

4° Le glucose et le lévulose atténuent beaucoup la couleur normale et rendent l'Algue plus ou moins jaune ».

Chez les végétaux supérieurs eux-mêmes M. MOLLIARD parle de la teinte plus verte qu'acquièrent les feuilles lorsque la plante est en présence de glucose (1907).

D'autres auteurs avaient signalé la disparition du pigment sous l'influence des sucres. MIQUEL, par exemple en 1892, dit que sous l'influence des hydrates de carbone, de la glycérine, de l'alcool et des sels des acides organiques, les Diatomées en général deviennent sans couleur. KARSTEN en 1901 avait déjà montré les variations morphologiques que subissent certaines Diatomées lorsqu'elles sont cultivées en présence d'hydrates de carbone avec ou sans substances azotées. Il a décrit en particulier la réduction des chromatophores avec la disparition de la pigmentation chez *Nitzschia palea* en présence de glycérine.

Mais à côté de ces faits, nous devons signaler que, d'après ARTARI, le *Scenedesmus caudatus* reste vert dans 0,5 pour 100 de glucose, tandis qu'il devient sans couleur dans 3,5 pour 100 de solution sucrée, ce qui indique l'influence de la quantité du sucre dans la culture.

CHODAT (1913) a montré que, *Chlorella variegata* se décolore rapidement sur un milieu nutritif glucosé et qu'il se maintient presque indéfiniment sous cet état, sauf si on fournit au milieu de la peptone dont la présence provoque à nouveau le verdissement aussi bien à l'obscurité qu'à la lumière. Celui-ci devient plus intense et plus rapide avec une concentration de 0,1 à 0,8 pour 100. Lorsqu'on donne de la peptone seule sans glucose il n'y a pas de décoloration. Il semble donc qu'il y ait dans ce cas un rapport nécessaire, pour le verdissement, entre l'azote et le carbone assimilables.

De même P. A. DANGEARD (1921) a constaté que des *Scenedesmus acutus* sur milieu glucosé se décolorent et ne se reproduisent pas à l'obscurité. Il suffit d'ajouter un peu de peptone au milieu nutritif pour obtenir, à l'obscurité, des cultures vigoureuses et d'une belle couleur verte (1 pour 100 de glucose et 0 gr. 8 de peptone pour 1.000 grammes d'eau distillée). Si on augmente la dose de glucose les colonies s'étiolent et deviennent incolores.

D'après MATRUCHOT et MOLLIARD, si certains sucres provoquent la décoloration, d'autres, au contraire, l'exagèrent ; ils diffèrent avec les plantes. Il est peut-être possible alors de trouver pour chaque algue un sucre susceptible d'augmenter sa pigmentation. Cette question est loin d'être au point, comme le dit OLTMANN (1922).

Par ailleurs, chez les végétaux supérieurs on sait, depuis les travaux d'OVERTON, COMBES et PALLADINE que l'accumulation de sucres dans les cellules provoque la formation d'anthocyane qui ne doit pas être considérée comme dérivant de la modification de chromogènes existant déjà, mais comme se constituant de toutes pièces grâce à la présence de quantités importantes de sucres.

OVERTON, en cultivant certaines plantes aquatiques : *Trapa natans*, *Hydrocharis morsus-ranæ*, *Elodea canadensis* et divers *Myriophyllum* dans des solutions contenant des sucres en proportions suffisantes, put déterminer la formation d'anthocyane dans les organes de ces végétaux. Les témoins en solution non sucrée conservaient leur teinte verte initiale.

Les mêmes résultats furent obtenus avec des plantes terrestres. Il constata la formation d'anthocyane dans des rameaux d'*Ilex aquifolium*, d'*Hedera helix*, de *Saxifraga crassifolia* placés dans des liqueurs sucrées à partir d'un certain degré de concentration des solutions.

Les sucres interviendraient par leur nature chimique.

Nous assistons, dans ce cas, à la formation d'un nouveau pigment.

Partant de l'ensemble de ces faits il était naturel d'admettre que le sucre du mucus de l'Huitre doit être la cause de la fixation sur le sol, par chimiotactisme, du *Navicula Ostrearia* et l'origine du pigment bleu qui apparaît ensuite dans cette Diatomée.

Pour vérifier cette hypothèse, j'entrepris de faire des cultures non plus en utilisant du mucus d'Huitres, mais avec des sucres.

J'aurais pu employer ces substances dès le début de mes recherches. Il était nécessaire cependant d'étudier l'action du mucus pour bien montrer que, dans la nature, les hydrates de carbone susceptibles de provoquer la pigmentation anormale de la Navicule n'avaient pas une autre origine.

BORNET, en 1895, a fait des essais de culture qu'il n'a pas poursuivis : « Les essais de culture que nous avons faits à Paris, d'après le procédé de MIQUEL n'ont pas réussi. »

Ce n'est que MITCHELL et BARNEY en 1917 qui ont vraiment tenté des essais sérieux. Voici les milieux qu'ils ont employés. Ils sont très variés, c'est vrai, mais on y trouve des sucres et aussi de l'extrait d'Huitres, ce qui montre bien qu'ils avaient pensé à l'action de substances provenant des Huitres.

1. Unfiltered sea water sp.g. 1014.
2. Filtered — — —
3. — — — 1 per cent lactose broth.
4. — — — 1 per cent dextrose broth.
5. — — — oyster broth.
6. — — — ammonium nitrate.
7. — — — ammonium chloride and sodium sulphate.
8. — — — urea.

- (a) 9. Artificial sea water : 1.000 of H^2O ; 25 gr. of NaCl; 1 gr. of Mg SO^4 ; 5 gr. of $CaCl^2$; 1 gr. of Na Br.
- (a) 10. Artificial sea water : 1.000 cc. of H^2O ; 1 gr. of $HNa^2 PO^4$; 15 gr. of NaCl; 1 gr. of NaBr; 1 gr. of $CaCl^2$.
11. Artificial sea water : same as n° 9, with straw and moss added.
12. — : same as n° 10, with straw and moss added.
- (a) 9. et 10 contained also a considerable quantity of dead diatom material.

On set of these solutions was kept at room temperature and another at approximately 26° C.

The solutions wich contained the dextrose, lactose and Oysters broths were sterilized to present too flourishing bacterail growth. The broths here mentioned were those used in bacteriological work. »

J'ai bien essayé également de faire des cultures en me basant sur les données de MIQUEL. Je n'ai obtenu aucun résultat. On est frappé, dès le début, par la très grande fragilité du *Navicula Ostrearia* qui meurt avec une facilité déconcertante, alors que beaucoup d'autres Diatomées se développent et se reproduisent, même dans des conditions qui paraissent peu favorables.

Maintenant que l'on connaît bien les grands traits de sa biologie, on comprend cette particularité et on s'explique les échecs des cultures.

Les Diatomées qui paraissent résistantes, et qui se cultivent facilement sont normalement benthoniques. Le *Navicula Ostrearia* est une Diatomée normalement pélagique. On sait combien il est difficile d'élever au laboratoire les animaux du plancton et il est bien évident qu'il doit en être de même des algues.

Comme le *Navicula Ostrearia* est benthonique dans certaines conditions, il devenait possible de le cultiver ainsi en le mettant d'emblée en présence de ces conditions maintenues aussi longtemps que possible.

Pigmentation expérimentale du « Navicula Ostrearia » — Dès le début de mes expériences, j'ai utilisé la glycérine qui m'a toujours donné d'excellents résultats. Voici comment je prépare le milieu de culture : dans un litre d'eau de mer je délaie une petite quantité d'argile grasse prise dans un lai de mer de la côte. J'y ajoute quatre gouttes de glycérine pure (20 gouttes au cm^3). Je verse le tout dans un cristalliseur.

Je recueille des Navicules dépigmentées dans un coin de certaines claires puis je les mets dans le milieu préparé comme je viens de le dire et auquel j'ajoute encore une goutte de glycérine le troisième ou quatrième jour. C'est vers le cinquième que l'on assiste à la pigmentation des Navicules.

Je me procure aussi des Navicules dépigmentées de la façon suivante : j'ajoute à l'eau d'un cristalliseur un peu d'eau fortement saturée de Navicules bleues prises à la surface d'une claire. Les Navicules se déposent, forment une pellicule, se déplacent suivant la direction de la lumière. Elles restent bleues, dans ces conditions, pendant huit, dix et même quinze jours au bout desquels on assiste à la perte progressive de leur coloration. C'est là, semble-t-il ce que CALVET, en 1910, a observé. Il ne s'agit évidemment pas d'une culture de Navicules. Il en meurt un grand nombre, mais il en reste beaucoup de vivantes, sans pigment ; d'autres n'en ont que très peu. Il suffit d'agiter l'eau pour les détacher ou, en s'aidant d'une pipette on les transporte dans le milieu préparé comme il est indiqué ci-dessus. On assiste, au bout de cinq ou six jours, à l'apparition du pigment bleu chez celles qui en étaient complètement dépourvues. Il s'étend progressivement chez celles qui n'étaient pas tout à fait dépigmentées.

Pendant les premiers jours, de nombreuses Navicules viennent se fixer sur la paroi du côté éclairé ; à l'aide d'une pipette on les détache. Lorsqu'elles commencent à se dépigmenter, elles restent, en majorité, sur le fond. Il faut renouveler, de temps en temps, une partie de l'eau en ayant soin d'ajouter à celle que l'on introduit une goutte ou deux de glycérine.

J'ai obtenu des résultats analogues en remplaçant l'argile naturelle par du kaolin lavé. Avec ce dernier, on ne s'expose pas au développement des bactéries sulfureuses qui se produit lorsque la couche d'argile est trop épaisse. Il y a tout de même quelques petites différences dont je parlerai plus loin.

J'ai constaté la même pigmentation de la Navicule en remplaçant la glycérine par du glycogène et surtout par de l'amidon. Avec le glucose, elle a encore lieu mais elle semble plus longue et moins nette.

Toutes ces cultures ont été faites sans prendre de précautions spéciales d'aseptie. Les bactéries s'y développent, lentement c'est certain si l'on prend des précautions parce que dans l'eau de mer leur reproduction est gênée, mais ce sont elles qui, en définitive, finissent par tuer les Navicules. Il reste donc encore à faire des cultures pures bien que la séparation à l'état de pureté absolue d'une Diatomée aussi fragile que le *Navicula Ostrearia* me paraisse bien difficile à obtenir. Dans les miennes, on peut se demander si ce sont les sucres ou les éléments de leur décomposition par les bactéries qui interviennent. C'est ce que des cultures pures seules permettraient de montrer. Cependant, d'après ce qu'on connaît de l'action de ces substances sur la pigmentation des plantes, on peut admettre que ce sont bien les sucres qui agissent.

J'ai voulu me placer, avant tout, dans les conditions naturelles. Or, dans la nature, les bactéries interviennent. Malheureusement dans les cristallisoirs, elles se multiplient beaucoup plus facilement qu'en pleine mer. Sur les fonds marins, les bactéries s'attaquent aux complexes organiques et en libèrent certains éléments. Le cas de la Navicule utilisant l'un de ces derniers, en l'espèce un sucre, n'est qu'un cas particulier. Le fait paraît très général. J'ai pu le constater pour d'autres Diatomées. J'ai obtenu, par exemple, de très belles cultures de *Pleurosigma* dans des cristallisoirs où je n'avais fait qu'ajouter à l'eau des débris végétaux (*Ruppia maritima* L.). Cette Diatomée pullulait et présentait une activité exceptionnelle au moment du développement des bactéries. Elle dégénérait lors de l'arrêt de ce dernier, puis se développait à nouveau quand, en ajoutant de l'eau douce, je le provoquais.

C'est, peut-on dire, le développement des bactéries qui conditionne celui de beaucoup de Diatomées. Ce côté de la physiologie de ces dernières semble peu connu. Il y a là de beaux exemples d'associations comme on en connaît dans le règne végétal.

En ce qui concerne le *Navicula ostrearia*, j'ai pu conserver des cultures pendant deux et trois mois sans ajouter d'éléments minéraux et il semble bien que ce soit la cause de l'arrêt constaté autant que le progrès des bactéries.

Si le pigment bleu paraît résulter d'une modification de celui de l'endochrôme, comme nous le verrons plus loin, il n'en est pas moins vrai qu'il est produit abondamment lorsque la Diatomée se trouve en présence d'une quantité relativement forte de sucre. Ce pigment qui est un produit du métabolisme cellulaire, comme tout pigment végétal, nous apparaît plus spécialement comme un produit du métabolisme des sucres dans la cellule, et probablement de leur utilisation par l'algue. D'autre part, de l'ensemble de mes observations, il ressort que ce pigment ne joue aucun rôle dans la biologie du *Navicula*. Il apparaît même plus nuisible qu'utile. On doit le considérer simplement comme l'un des produits, inutilisé secondairement, d'une réaction chimique.

Depuis les travaux d'OVERTON, PALLADINE et surtout de R. COMBES, l'anthocyanose nous

apparaît aussi très nettement comme un produit du métabolisme des sucres et, à ce titre seulement, sans tenir compte qu'il ne paraît pas être une modification du pigment existant, nous pouvons le comparer avec celui dont je m'occupe.

Rapprochons maintenant de ces faits l'action des sucres sur la chlorophylle. Nous avons vu l'endochrôme avec son pigment disparaître chez certaines Diatomées élevées en présence de sucres et surtout de glycérine. Je montrerai plus loin que cette disparition n'a lieu que lorsque le supplément de sucre vient modifier les proportions nécessaires des divers éléments de la culture. Dans le cas contraire, cette dégénérescence n'a pas lieu.

Nous avons vu, avec L. MATRUCHOT et M. MOLLIARD que, en présence de sucres, il y a production de chlorophylle à l'obscurité. P.-A. DANGEARD, en 1921 et 1926, montre que les algues inférieures se développent indéfiniment à l'obscurité tout en continuant à former de la chlorophylle, pourvu que le milieu nutritif renferme du carbone organique, de préférence sous la forme de glucose.

Chez les végétaux supérieurs, l'action des sucres sur la formation de la chlorophylle est encore très nette. Je cite M. MOLLIARD (1921) : « Les sucres interviennent aussi dans la production de la chlorophylle ; si on répète l'expérience précédente (DE PALLADINE) en plaçant des feuilles étiolées, les uns à la surface d'eau pure, les autres à la surface de solutions glucosées, on constate que le verdissement à la lumière est beaucoup plus rapide et devient plus intense dans le second cas ; on arrive au même résultat en faisant des cultures de plantes supérieures en présence de solutions, tels que le glucose, le lévulose, le saccharose, le maltose, le raffinose, la glycérine.

« Cette action des sucres sur la formation de la chlorophylle n'apparaît pas d'ailleurs avec toutes les plantules ; c'est ainsi que si on s'adresse à des feuilles étiolées de Lupin, on observe qu'elles se comportent, comme nous venons de le dire, très différemment sur de l'eau pure ou sur une solution de glucose ; mais dans l'expérience répétée avec de jeunes feuilles étiolées de Blé, on constate qu'il se produit un verdissement comparable dans les deux cas ; cela tient à ce que les feuilles de blé contiennent d'abondants composés sucrés qui font au contraire défaut dans les feuilles de Lupin ; le Blé se suffit donc à lui-même en ce qui concerne la condition envisagée ». Et je cite aussi ce fait intéressant : « La concentration des sucres employés en solution dans les expériences qui viennent d'être rapportées n'est pas indifférente ; en ce qui concerne par exemple le saccharose, le verdissement est surtout favorisé par des concentrations faibles ou moyennes ; mais si la proportion de sucre atteint 35 pour 100 on constate que la chlorophylle ne se forme pas, même au bout de plusieurs jours, à la lumière. » L'action de la lumière sur l'assimilation des sucres par les végétaux supérieurs est discutée, mais peu importe d'ailleurs.

La chlorophylle ne nous apparaît-elle pas alors, elle aussi, comme un produit du métabolisme des sucres ? On a étudié beaucoup plus, jusqu'ici, son action possible dans la photosynthèse que le déterminisme de sa formation. Depuis qu'on l'a vue se former à l'obscurité, son rôle dans la photosynthèse apparaît comme plus hypothétique. En tout cas, à l'obscurité on ne voit pas quel rôle elle pourrait jouer. P.-A. DANGEARD, en 1926, dit : « Il est donc suffisamment démontré qu'une algue verte peut vivre exclusivement en saprophyte, tout en continuant de fabriquer de la chlorophylle et cela sans limite de durée ; quel est, dans ce cas, en l'absence de lumière, le rôle de la chlorophylle ; ce rôle même existe-t-il ? On ne saurait, pour l'instant, rien dire à cet égard. »

Depuis quelques années, les recherches sont dirigées dans une voie nouvelle, celle de l'action chimique des radiations sur le protoplasma végétal. Elles aboutiront, sans nul doute, à la

découverte du déterminisme de la formation de la chlorophylle, problème qu'on aurait dû essayer de résoudre avant tout. Son rôle, si elle en joue un, apparaîtra alors immédiatement. Hypnotisé par la généralité de sa présence on lui a rapporté tous les phénomènes.

BLACKMAN, en 1920, a dit pour quelles raisons l'intérêt, dans les recherches sur la photosynthèse, s'est déplacé de la chlorophylle vers le protoplasma.

1° Le coefficient de température de l'assimilation chlorophyllienne n'est pas celui d'une réaction photochimique, mais d'une réaction sombre;

2° WILLSTÆTTER et STOLL (1918) ont déterminé les activités photosynthétiques de feuilles de diverses variétés (vertes et jaunes) et à différents états de développement. Les « nombres d'assimilation », c'est-à-dire les quantités de CO_2 assimilé en une heure par un gramme de chlorophylle, sont extrêmement variables, ce qui conduit WILLSTÆTTER et STOLL à penser que la photosynthèse ne dépend pas seulement du pigment, mais d'un autre facteur de nature diastatique ;

3° Au début de leur développement, les feuilles passent par un stade durant lequel, bien qu'ayant déjà une certaine quantité de chlorophylle, leur fonction assimilatrice n'est pas établie (IRVING, 1910). Il existe, selon BRIGGO (1920), un facteur interne qui augmente rapidement avec l'âge, jour par jour, que la feuille soit à la lumière ou à l'obscurité et qu'il y ait ou non augmentation concomitante de la teneur en chlorophylle;

4° Le pouvoir de réduire le CO_2 pour former de la matière organique ne se rencontre pas exclusivement chez les végétaux verts. Certains organismes inférieurs peuvent utiliser, pour cette chemosynthèse l'énergie de l'oxydation de diverses substances (d'après WURMSER, 1921).

Malgré cela, on continuait à faire jouer un rôle chimique à la chlorophylle dans les réactions de synthèse.

WURMSER est allé plus loin. En 1925 il dit : « La chlorophylle soumise à l'action de la lumière est rapidement détruite tant qu'elle n'est pas mise à l'abri du contact de l'oxygène. De même, elle est transformée en phéophytine en présence de tout acide tel que CO_2 qui s'empare de son magnésium. Dans les chloroplastes, où les végétaux localisent la chlorophylle, celle-ci est protégée à la fois contre le contact de l'oxygène et du CO_2 par les colloïdes incolores qui forment le stroma. » C'est une idée qu'il avait exprimée déjà en 1920. Il admettait la possibilité d'une « conception purement physique du rôle de la chlorophylle dans l'assimilation ». En 1925, il précise cette idée ainsi : « Dans les hypothèses les plus simples, la chlorophylle intervient comme un sensibilisateur optique pour permettre aux radiations du spectre visible d'effectuer des transformations qui n'ont, en l'absence de pigment, de vitesse sensible que dans l'ultra-violet ». Il faudrait alors lui trouver un autre rôle à l'obscurité.

Si nous envisageons l'ensemble des faits, à savoir la production de chlorophylle aussi bien à l'obscurité qu'à la lumière lorsqu'on fournit des sucres aux plantes, ce pigment qui nous apparaît, ainsi que d'autres pigments végétaux, comme le produit du métabolisme d'un sucre, nous apparaît plus spécialement, ainsi que le pigment bleu du *Navicula Ostrearia*, comme le produit de l'utilisation des sucres par la plante. Ce serait donc, non pas lors de la synthèse du sucre résultant de l'action de la lumière sur le protoplasma végétal, qu'elle prendrait naissance, mais seulement lors de l'utilisation du sucre par la plante. Sa production aussi bien à l'obscurité qu'à la lumière nous laisse prévoir qu'avant peu on montrera d'une façon définitive que ce produit du métabolisme végétal ne joue aucun rôle dans la photosynthèse. On peut se demander : En présence ou en l'absence de lumière quel est le rôle de la chlorophylle ; ce rôle existe-t-il ?

C'est un fait que certains produits du métabolisme cellulaire interviennent ensuite dans ce

métabolisme et, avant d'affirmer qu'une substance comme la chlorophylle est absolument inutile, des expériences nombreuses sont nécessaires. Quelques auteurs ont déjà montré que quelques algues en l'absence de chlorophylle vivaient et se développaient parfaitement. C'est dans cette voie qu'il faut aussi poursuivre les recherches.

Le processus de la pigmentation du "Navicula"

Voyons maintenant comment apparaît le pigment bleu dans la Navicule. Je parlerai d'abord de ce que j'ai observé dans mes cultures. Je dirai ensuite ce qui en diffère dans la nature.

J'ai signalé que les deux endochrômes symétriques de la Navicule dépigmentée étaient très longs, atteignant presque les extrémités du frustule et très larges. Chacun d'eux est terminé des deux côtés par une granulation. Lorsque le pigment apparaît, celles-ci colorées ou non sont plus nettes. Il se montre d'abord dans le protoplasma des deux extrémités. Ce dernier s'étend à ce moment de plus en plus, refoulant devant lui les vacuoles qui se réduisent. Bientôt la zone pigmentée atteint le niveau des endochrômes et pénètre légèrement entre eux. Lorsque la pigmentation se développe encore, ce qui arrive plus rarement, ce sont les deux bandes protoplasmiques latérales qui se colorent.

Simultanément, nous voyons les endochrômes se réduire en longueur et en largeur. Leur coloration qui reste brune sur un fond d'argile devient jaune pâle sur du kaolin pur. Sur toute leur longueur, aussi bien les bords que la face interne, apparaissent des granulations dont beaucoup sont colorées en bleu ou bleu-verdâtre et dont quelques-unes brillantes sont légèrement jaunes (voir figure XV de la planche). La granulation apparaît d'abord comme un simple petit dôme de la même couleur que l'endochrôme. Il grossit, forme comme un bourgeon avec un pédoncule qui se réduit de plus en plus. Dans ce bourgeon, on passe du jaune brun de l'endochrôme à la base, au vert puis au bleu à la partie distale. Le pigment bleu apparaît donc comme une modification du pigment de l'endochrôme. Le bourgeon se sépare ; la gouttelette qui en résulte reste dans le protoplasma et n'envahit pas la vacuole. Lorsque, entre lame et lamelle, pour une raison quelconque, mais anormale, une de ces granulations pénètre dans une vacuole on s'en rend compte tout de suite car elle y est animée d'un mouvement comparable au mouvement brownien, tandis que dans le protoplasma elle reste immobile.

La réduction des endochrômes s'accroît de plus en plus et bientôt nous assistons, dans de nombreuses cellules, à la segmentation totale de ce qui en reste. Le pigment bleu se développe abondamment et les Navicules sont presque toutes entièrement colorées.

Comme pour les *Nitzschia palea* avec KARSTEN, puis *Stichococcus bacillaris* avec M. MOLLARD, nous assistons à une réduction de l'endochrôme que l'on pourrait prendre pour une dégénérescence cellulaire. Il n'en est rien, comme nous allons le voir. La cellule présente une activité exceptionnelle ; elle se déplace avec rapidité ; beaucoup sont en division. Le frustule s'allonge et s'élargit légèrement. La solution sucrée paraît être un milieu très favorable au *Navicula Ostrearia* tandis que, dès le début, toutes les autres Diatomées qui ont été introduites dégèrent et disparaissent presque complètement. Il ne reste plus que quelques exemplaires de deux ou trois espèces de Diatomées, et en particulier de *Pleurosigma* qui paraissent plus résistantes. C'est tout à fait ce que l'on constate dans la nature sur les fonds où se développe la Navicule bleue, ce qui vient encore appuyer l'idée de la présence d'un sucre sur ces fonds.

Mais alors, comment expliquer la réduction, la fragmentation et la disparition des endochrômes ?

Examinons ce qui se passe dans la nature. Certes, ils se réduisent en longueur et en largeur, mais cette réduction est très faible et leur coloration reste toujours d'un beau brun. Ils ne se fragmentent jamais.

Ce qui diffère dans les cultures, c'est la faible importance des éléments minéraux qui ne sont pas renouvelés. Dans la nature, au contraire, ces derniers sont abondants et la proportion de sucre, par rapport à eux, reste faible. L'endochrôme se renouvelle et ne disparaît pas. Il semble bien qu'il y ait un rapport nécessaire entre les éléments minéraux, peut-être azotés, et le sucre. Il y a là des recherches à faire dont la voie est ouverte.

En tout cas, nous pouvons dire que le *Navicula Ostrearia* en présence de sucre non seulement ne dégénère pas, mais, au contraire, présente une activité exceptionnelle. Lorsque les éléments minéraux sont renouvelés et que la proportion de sucre est faible, l'endochrôme lui-même n'est guère modifié.

De l'ensemble de ces observations, il n'en ressort pas moins qu'une variation dans le chimisme de l'algue entraîne des modifications morphologiques assez importantes. La forme est intimement liée au chimisme de la cellule. C'est ce qu'ont déjà montré les expériences de L. MATRUCHOT et M. MOLLIARD sur le *Stichococcus*.

Les granulations, qui sont si abondantes dans les Navicules des cultures, ne sont en général pas aussi nombreuses dans la nature. Ici les quatre granulations des extrémités des endochrômes sont toujours présentes. Quelquefois, on trouve des Navicules ayant une ou deux granulations supplémentaires. Ceci est en rapport avec la quantité de sucre à la disposition de la Diatomée.

Cependant, au mois de juin 1926, dans le bassin cimenté dont j'ai déjà parlé et dans un coin duquel on avait déposé des Huîtres en tas, les *Navicula Ostrearia* s'étaient abondamment déposés sur les Huîtres et formaient tout autour du tas un cercle très vert. La coloration était particulièrement intense. L'examen microscopique me montrait des Navicules bleues bourrées de gouttelettes huileuses dont la plupart étaient bleues. Ces Navicules étaient très actives et les endochrômes n'étaient, malgré tout, pas très réduits. Elles étaient, sans aucun doute, en présence d'une quantité un peu plus forte de sucre que cela se rencontre d'habitude.

Origine et nature des granulations

Ces granulations, qui se retrouvent aussi bien dans la nature que dans les cultures et dont la formation est particulièrement abondante en présence de sucres, que représentent-elles ?

Elles correspondent aux « gouttelettes d'huile » observées chez la plupart des Diatomées par de nombreux auteurs et à certains « élæoplastes » de MERESCHKOWSKY qui les a bien signalés chez le *Navicula ostrearia* en 1901. « Les élæoplastes varient comme nombre et disposition », dit-il.

Je vais examiner de plus près ce qu'on sait de ces « gouttelettes d'huile ». Puis je donnerai le résultat de mes observations personnelles. De l'ensemble des faits cités, ne formant qu'un bloc, nous essaierons de tirer des conclusions.

LUDERS J., en 1862, disait déjà en parlant des Diatomées : « L'huile, au contraire, comme on le sait, s'y trouve en abondance et fréquemment. Son développement paraît dépendre d'influences extérieures. » Il en a vu apparaître en quantité chez des Diatomées, en particulier *Nitzschia linearis*, placées dans un milieu dont les conditions devenaient défavorables : les cellules, par manque d'eau, risquaient de se dessécher. Après une forte pluie qui avait fait couler la source pendant quelque temps, toutes les gouttelettes d'huile ont disparu

au bout de quelques jours et les Diatomées ont repris leur aspect primitif. Il a fait la même observation dans les cultures. Quand l'eau n'est plus renouvelée, il apparaît des gouttelettes d'huile qui disparaissent si les bonnes conditions sont rétablies.

Cette huile a naturellement été considérée comme une matière de réserve. Voilà donc des Diatomées qui sécrètent de l'huile quand elles sont dans des conditions défavorables et l'utilisent quand les conditions deviennent favorables. Il semble bien que ce serait le phénomène inverse qui devrait conduire à la conception finaliste de l'huile, substance de réserve. On va voir que, malgré cette évidence, les auteurs suivants ont adopté cette conception.

PFITZER E., en 1870-1871, dit qu'il s'agit bien de graisse car : « Elles (les gouttelettes), se colorent rapidement en noir par l'acide osmique, comme l'a montré le premier SCHULTZE (1865). » Il confirme les observations de LUDERS et dit que l'huile apparaît par manque d'oxygène et disparaît quand les conditions deviennent favorables.

Mais il ajoute : « La présence d'une grosse quantité de graisse est un signe que la cellule a un accroissement lent et simultanément met des substances en réserve. » Il faut être suggestionné par cette conception que l'huile doit être une substance de réserve pour ne pas voir la contradiction exprimée ici. Et cela nous indique tout de suite que les vraies conditions qui déterminent la formation d'huile dans le milieu défavorable restent à chercher.

PFITZER fait remarquer, le premier, que l'on ne trouve ni sucre, ni amidon chez les Diatomées et que l'huile semble formée directement à partir du CO_2 absorbé.

LAUTERBORN, en 1896, a observé la très grande généralité de l'huile chez les Diatomées. Elle apparaît, dit-il, quand l'oxygène fait défaut. Mais il a remarqué qu'elle n'existe pas toujours en gouttelettes. Puis, il note que les gouttelettes sont solubles dans l'éther sulfurique, qu'elles se colorent en noir intense par l'acide osmique et qu'il s'agit bien, par conséquent, d'une matière grasse.

W. BENECKE, en 1900, la considère encore comme une substance de réserve. Il a remarqué qu'elle se présente « sous forme de gouttelettes qui sont solubles dans l'alcool et l'éther, se colorent en noir brunâtre avec l'acide osmique et absorbent le pigment des solutions d'alkanna et de chlorophylle dans l'alcool ».

Il a noté que des gouttelettes s'accumulent dans les Diatomées sans couleur par manque d'eau, mais aussi — cela est important et signalé pour la première fois — dans des conditions spéciales de nutrition. Il constate la disparition des gouttelettes dès qu'il transporte les Diatomées dans une nouvelle goutte de culture.

En 1901 et 1903, avec MERESCHKOWSKY, on arrive à une étude plus complète de la question. Il désigne sous le nom d'« Elæoplastes » toutes les granulations d'apparence huileuse et pour lui certains élæoplastes ne sont pas formés d'huile seulement. Voici comment il s'exprime en 1903 : « Il me semble qu'en attendant que la constitution chimique et le rôle physiologique de ces corpuscules soient mieux connus, mon système de classification des élæoplastes que je propose ici et qui est basé sur leur morphologie et topographie est à préférer.

Elæoplastes	{	sparsioplastes : nombre et position variables.			
		{	Stabiloplastes,	{	Placoplastes : attachés aux plaques.
			nombre et position, constants.		Libroplastes : Libres, disposés sur la ligne médiane de la valve ou du frustule. »

Et il précise : « Certains élæoplastes et notamment les libroplastes ne sont pas d'ailleurs de simples gouttelettes oléagineuses ; ils possèdent une certaine structure ayant pour base du protoplasma et pouvant se mouvoir comme de petites amibes. C'est à l'intérieur de cette masse protoplasmique que se disposent les gouttelettes huileuses ou élæoplastes proprement

aits. » Puis plus loin : « Certains faits que j'ai observés sur les libroplastés des Pleurosigmées démontrent qu'une fonction spéciale doit leur être attribuée, qui paraît être celle d'emma-gasiner certains produits d'assimilation élaborés par les chromatophores ».

Dans un autre travail de 1903, il note qu'une relation génétique doit exister entre pyrén-oïde et éléoplaste.

J'ai dit plus haut que PFITZER, en 1870-71, avait fait remarquer l'absence de sucre et d'amidon chez les Diatomées et supposait que l'huile pouvait être formée directement aux dépens de CO^2 . En 1904, BEIJERINCK précise cette idée qu'il croit d'ailleurs émettre le pre-mier. Il fait des cultures pures de Diatomées. Ses observations lui permettent de conclure : « Le produit de l'assimilation de CO^2 serait de l'huile. Par la réaction de l'acide osmique on la reconnaît facilement dans la cellule où elle se présente en gouttelettes libres, mais plus diffi-cilement lorsqu'elle est dans le protoplasma. » Il n'a trouvé ni glycocène, ni amidon, ni pyra-mylon dans les Diatomées qu'il a observées. Il fait remarquer que chaque cause qui gêne la croissance, lorsque d'ailleurs l'assimilation du CO^2 n'est pas troublée (plus loin il se demande si la croissance peut s'arrêter sans nuire à l'assimilation de CO^2) provoque une forte et nette accumulation de gouttelettes d'huile. Cette huile peut arriver à remplir toute la cavité cel-lulaire et supplanter même tout le liquide de la vacuole. Et plus loin : « Ayant obtenu les mêmes résultats avec les Diatomées différentes des espèces sus-nommées d'eau douce et de mer il ne faut pas douter de la valeur générale de cette proposition qu'une huile est le premier produit d'assimilation du CO^2 visible dans les cellules de Diatomées. » Cette observation a évidemment une très grande importance.

L'auteur considère également l'huile des Diatomées comme une substance de réserve. Cependant si l'huile est le produit d'assimilation du CO^2 comme il le montre, n'est-il pas plus logique de penser que l'accumulation d'huile dans les Diatomées placées dans des conditions, soi-disant défavorables, est due à la présence d'une quantité anormale de CO^2 dans le milieu ? Cette conception plus scientifique qui envisage tout de suite la genèse et ne se contente pas de discuter sur le produit final, est certainement plus proche de la réalité.

D'ailleurs l'auteur pousse le finalisme à son extrême limite et termine sa note ainsi : « De toutes façons, ce fait capital (que les Diatomées fabriquent de l'huile) doit nous faire penser que, pour le plancton en général, l'huile est comme un flotteur survenu fort à propos. » Or, il y a un très grand nombre de Diatomées benthoniques qui ne sont jamais planctoniques et qui n'en fabriquent pas moins de l'huile.

Enfin, HEINZERLING OTTO, en 1908, fait d'intéressantes observations sur la nature des gouttelettes. C'est lui, en somme, qui a étudié d'une façon assez complète les réactions des gouttelettes huileuses, en particulier chez *Achnantes minutissima* Kütz. « Les gouttelettes d'huile étaient solubles, à la température de la salle, dans l'alcool absolu, l'éther, le chloroforme, la benzine, le xylol. L'hypochlorite ne les dissout pas, pas plus que l'acide sulfurique concentré. Dans SO^4H^2 concentré, elles paraissent se fondre les unes dans les autres, mais elle se présen-tent dans d'autres cas comme formées d'une huile typique. Elles restent sans couleur, tandis que de fines gouttelettes d'huile de ricin et d'olive deviennent jaune brun dans SO^4H^2 . Dans une faible solution de Fe Cl^3 dans l'eau, elles restent sans changement. Après une cuisson de cinq heures dans l'eau, elles ne sont pas attaquées et ne perdent pas leur faculté de coloration. Dans une solution à 30 pour 100 de lessive de soude, de rondes elles deviennent anguleuses après trois heures d'action, diminuent lentement de grosseur et, après cinq heures, elles ne sont plus visibles. Mais il est difficile de reconnaître si elles sont dissoutes. Les gouttelettes

d'huile se colorent en brun noir dans un temps très court, dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100.

Le Sudan III les colore en rouge. Le Naphtoblau les colore en bleu d'acier.

Mais elles ne donnent, pas plus avec la potasse qu'avec la soude, de savon net.

Et il conclut que ces gouttelettes ne sont probablement pas toutes formées uniquement d'huile.

Il critique les vues de MERESCHKOWSKY qui ne donne aucun renseignement sur la nature des granulations. Comme nous l'avons vu, pour cet auteur, les libroplastes ne seraient pas de simples gouttelettes d'huile et présenteraient des mouvements amœboïdes. HEINZERLING a observé de véritables gouttelettes d'huile se dissolvant dans les solutions signalées plus haut et qui cependant présentaient aussi des changements de forme dans la cellule vivante.

Voici maintenant le résultat de mes observations sur les granulations du *Navicula Ostrearia* qui, nous l'avons vu, peuvent être colorées en bleu ou seulement jaunâtre.

Je signalerai en même temps, parce que les deux éléments ne sont pas sans rapport, l'action des mêmes réactifs sur le protoplasma coloré.

Ce sont des réactions microchimiques faites selon le procédé classique : entre lame et lamelle, avec un buvard d'un côté qui aspire le liquide entre celles-ci et une pipette de l'autre avec laquelle on introduit le réactif. L'opération est lente car le réactif n'arrive souvent que difficilement aux gouttelettes qui sont isolées d'abord par le mucilage extérieur et, dans la Navicule même, par le frustule. J'ai vu parfois la réaction ne se produire qu'après un certain écrasement.

1° *Acide acétique*. — Le protoplasma bleu des Navicules est complètement dissout sans laisser de trace. Seuls les endochrômes réduits en boules restent dans le frustule et ne sont momentanément pas décolorés. Les gouttelettes huileuses sont dissoutes entièrement ;

2° *Alcool*. — a) alcool à 70°. — La partie colorée de la Navicule se résout en fines granulations bleu foncé qui sont tout d'abord mobiles à l'intérieur du frustule, puis immobiles. Elles disparaissent peu à peu. Les endochrômes se ramassent au centre en deux gros amas puis se résolvent en gros granules bruns. Les gouttelettes huileuses subsistent.

b) alcool absolu. — Le protoplasma pigmenté disparaît tout d'un coup. Les endochrômes forment deux amas. Les gouttelettes huileuses subsistent, mais sans pigment ;

3° *Ether sulfurique*. — Le protoplasma pigmenté se décolore subitement. Les endochrômes se réduisent à quelques granulations plus ou moins distinctes. Les gouttelettes huileuses subsistent sans pigment ;

4° *Toluène*. — Le pigment des extrémités disparaît lentement après fragmentation du protoplasma. Les endochrômes forment des masses brunes irrégulières. Les gouttelettes huileuses subsistent ;

5° *Acide osmique*. — Si l'acide arrive brusquement au contact de la Navicule, celle-ci éclate et il ne reste plus dans le frustule que les endochrômes et les gouttelettes huileuses.

Mais si l'acide dilué arrive lentement à son contact, le protoplasma coloré de la Navicule se contracte lentement et noircit.

Les gouttelettes huileuses noircissent au bout de quelques minutes. Certaines gardent une couleur bistre seulement ;

6° *Solution alcoolique saturée de Sudan III*. — Le protoplasma des deux extrémités se résout en fines granulations bleues. Les deux endochrômes forment des masses irrégulières, brunes. Les gouttelettes huileuses se colorent en orange ;

7° *Scharlach R.* $\left\{ \begin{array}{l} \frac{1}{2} \text{ alcool } 70^{\circ}. \\ \frac{1}{2} \text{ acétone.} \end{array} \right.$

Les gouttelettes huileuses se colorent fortement en rouge. Il est nécessaire de noter que le Sudan III et le Scharlach R se dissolvent dans l'aniline;

8° *Teinture d'alkanna.* — Réaction difficile à obtenir. Le réactif pénètre difficilement dans les frustules. Il faut écraser la préparation. Les gouttelettes se colorent en rose;

9° *Bleu de Nil sulfate.* — Même difficulté que précédemment. Après écrasement les gouttelettes se colorent en lie-de-vin légèrement rose.

Ces cinq dernières réactions ont été observées également sur les gouttelettes huileuses des Diatomées qui se trouvaient accidentellement avec les Navicules bleues;

10° *Eau douce.* — 1^{re} phase : Les endochrômes se groupent au centre en se déformant. Les gouttelettes huileuses bleues se décolorent et perdent leur forme sphérique. Elles deviennent anguleuses;

2^e phase : Le protoplasma pigmenté des deux extrémités se rapproche du centre; les deux extrémités du frustule semblent se remplir d'eau. Puis, brusquement, il y a éclatement du frustule et il n'y reste plus que les endochrômes déformés avec ce qui reste des gouttelettes huileuses;

11° *Solution alcoolique de potasse et ammoniacale.* — Je n'ai jamais pu observer la formation de savon au niveau des gouttelettes huileuses.

Avant de récapituler ces observations, je dois faire remarquer qu'on ne peut rien affirmer en partant des résultats négatifs. J'ai trop souvent observé des irrégularités lors des réactions positives; certaines gouttelettes ne réagissaient pas du tout, probablement parce qu'elles étaient isolées du réactif. D'autre part, l'action n'était peut-être pas assez prolongée. Cependant, toutes les réactions vraiment spécifiques des graisses sont négatives. Les réactions positives sont communes aux lipoides.

Je conclurai, avec HEINZERLING, que toutes ces gouttelettes d'apparence huileuse ou, plus brièvement, ces gouttelettes huileuses ne sont probablement pas formées uniquement d'huile.

Quelle que soit sa composition, la substance formant ces gouttelettes, sécrétée par les endochrômes, est sans conteste le support du pigment bleu, et le fait que le protoplasma bleuse colore en noir sous l'action de l'acide osmique nous montre qu'une partie de cette substance est intégrée au protoplasma, soit dissoute, soit en transformation et c'est par son intermédiaire que le protoplasma se trouve pigmenté.

Genèse des gouttelettes huileuses

Dans quelles conditions apparaissent donc ces gouttelettes huileuses?

Si nous plaçons entre lame et lamelle, sous le microscope, des Navicules bleues et ne présentant que quatre gouttelettes, c'est-à-dire une à chaque extrémité des deux endochrômes puis que nous laissons progressivement l'eau s'évaporer, nous verrons les Navicules dégénérer. Les frustules contiennent alors des gouttelettes huileuses plus ou moins nombreuses, et plus ou moins grosses. Il s'agit tout simplement de la substance huileuse, indistincte dans le protoplasma et dans les endochrômes, qui s'est isolée.

La plupart des faits signalés chez d'autres Diatomées depuis LUDERS semblent se rapporter à cette observation. Si j'en restais là, je pourrais conclure également que les gouttelettes huileuses s'accumulent lorsque les conditions deviennent défavorables. Beaucoup d'auteurs sont restés à cette explication de leur genèse.

J'ai montré plus haut que des granulations nombreuses étaient formées par les Navicules bleues dans la nature, alors qu'elles présentaient une vitalité exceptionnelle et j'ai rattaché ce fait à la présence d'une quantité importante de sucre. En général, sur les fonds naturels la substance huileuse, en dehors des quatre granulations des endochrômes, semble s'intégrer, aussitôt formée, au protoplasma qui se colore par son intermédiaire. La formation de cette substance n'est pas assez rapide pour former des gouttelettes à l'intérieur du frustule. C'est, au contraire, ce qui se produit dans le cas que je viens de signaler et aussi dans les cultures en présence de sucre lorsque la dose est relativement forte.

Dans toutes ces conditions, la Navicule qui présente une activité exceptionnelle, fabrique cette substance aux dépens des sucres qui sont à sa disposition.

Ne peuvent-elles pas en former encore dans d'autres conditions?

Mettons dans une bouteille de l'eau saturée de Navicules bleues prises à la surface d'une claire, ces Navicules ne présentant, d'une façon générale, que les quatre granulations des extrémités des endochrômes. Tenons la bouteille fermée pendant 48 heures environ. Si nous examinons alors les Navicules, nous les voyons bourrées de gouttelettes huileuses et cependant elles présentent encore une grande activité, leurs endochrômes sont bien en place.

On pourrait croire à une dégénérescence due à des conditions soi-disant défavorables, la substance huileuse du protoplasma et des endochrômes s'isolant, comme je l'ai montré plus haut. Mais l'examen de ces Navicules indique très nettement qu'elles diffèrent absolument de celles qui se trouvent dans un milieu qui se dessèche. On voit, au contraire, les endochrômes en pleine activité montrant des gouttelettes en formation sur toute leur longueur.

Si nous remarquons que le CO_2 s'est fortement accumulé dans l'eau à l'abri de l'air, nous rattacherons alors la formation extraordinaire de gouttelettes huileuses, à la concentration relativement forte du CO_2 , comme celle du sucre précédemment, dans l'eau. L'absorption du CO_2 est l'origine de cette substance huileuse.

J'ai fait les mêmes observations sur des Diatomées brunes extrêmement variées prises sur d'autres fonds. En ce qui concerne ces dernières, j'ai obtenu, au cours de mes recherches, une culture de *Pleurosigma* en laissant pourrir des débris végétaux dans le cristalliseur. Ces Diatomées, très vivaces, étaient bourrées de gouttelettes huileuses. J'ai constaté le même phénomène dans la nature, dans des endroits où ces mêmes conditions sont à peu près réalisées.

Si nous nous rappelons l'hypothèse de PFITZER, puis les observations et les conclusions de BEIJERINK, à savoir qu'une substance huileuse est le premier produit de l'assimilation du CO_2 visible dans les cellules de Diatomées, nous voyons que mes observations ne font que les confirmer.

L'accumulation du sucre dans la cellule provoque aussi une formation particulière de substance huileuse en même temps que le pigment dont celle-ci constitue le support, chez le *Navicula Ostrearia*.

J'attire l'attention sur le fait que l'absorption du sucre donne le même résultat que l'assimilation du CO_2 .

Les gouttelettes huileuses avec leur pigment sont excrétées

Voici, à ce sujet, une observation faite dans l'une de mes cultures. Les Navicules étant bourrées de gouttelettes huileuses, je laisse la culture livrée à elle-même. Au bout de quelque temps toutes les Navicules sont mortes. Examinons les frustules qui subsistent. Le protoplasma pigmenté des deux extrémités est devenu granuleux (fig. 4, 5, 6, 7, 8, 9 de la planche).

Nous savons qu'il est formé par le protoplasma proprement dit, auquel est intégrée la substance huileuse pigmentée. Nous connaissons la constitution des granulations provenant de sa fragmentation. Cependant, une partie de la substance huileuse s'isole à ce moment, comme je l'ai déjà dit.

Suivons entre lame et lamelle, sous le microscope, cette fragmentation du protoplasma par dégénérescence : nous voyons que les granulations, d'abord très petites, sont animées, à l'intérieur du frustule, de mouvements rapides, ce qui prouve que l'eau extérieure y a pénétré. Puis certaines grossissent et finissent par ne plus s'agiter. Les endochrômes décollés des parois forment des masses plus ou moins régulières au centre, les gouttelettes huileuses nombreuses sont diversement placées.

Je conserve cette culture dans cet état pendant plusieurs mois. Puis je l'examine à nouveau. Beaucoup de frustules sont totalement vides ; d'autres ne contiennent que les restes de leurs endochrômes. Mais très peu contiennent encore quelques rares gouttelettes huileuses ou quelques granulations protoplasmiques. Elles sont donc passées dans l'eau extérieure. On trouve d'ailleurs beaucoup de granulations vertes dans le mucilage anciennement sécrété par les Navicules.

Etudions maintenant un autre fait. Je rappelle que diverses Diatomées, aussi bien que le *Navicula Ostrearia*, placées dans un flacon fermé pendant quarante-huit heures, présentaient, au bout de ce temps, dans leurs frustules, une accumulation extraordinaire de gouttelettes huileuses. Je tiens à insister ici sur la généralité du phénomène chez les Diatomées. On comprendra son importance par la suite. Vidons alors ce flacon dans un cristalliseur exposé à l'air. Vingt-quatre heures après il y a déjà beaucoup moins de gouttelettes d'huile et trente-six heures après il n'y en a presque plus dans les Diatomées. Aucun changement n'étant apparent par ailleurs, il n'y a pas lieu de croire que toute cette substance huileuse a été utilisée en si peu de temps. Elle a été, sans aucune doute, excrétée. Et cela nous fait supposer, dès maintenant, qu'à l'état normal toutes les Diatomées peuvent très bien excréter une partie de la substance huileuse qu'elles fabriquent par assimilation du CO_2 ou de matières organiques.

Si l'on examine en effet le mucilage qui est sécrété par les Navicules bleues en pleine activité, on constate très nettement la présence de granulations vertes qui se distinguent bien de toutes les autres granulations étrangères emprisonnées dans ce mucilage. Mais en général on en trouve peu. On va voir pourquoi.

La substance huileuse pigmentée est soluble dans l'eau

1° A l'état normal ou après la mort des Navicules, la substance huileuse pigmentée se trouve libre dans l'eau extérieure et elle s'y dissout.

En effet, recueillons des Navicules en pleine activité à la surface de l'eau d'une claire et filtrons le liquide vert glauque obtenu, sur un filtre en papier ordinaire. L'eau recueillie ainsi paraît claire, mais une observation attentive indique qu'elle est parfaitement, quoique faiblement, colorée en vert clair. D'ailleurs, dans cette eau, une Huître verdit en quarante-huit heures.

Au début de mes recherches j'avais pensé, par ce moyen, séparer de l'eau les Navicules pigmentées. Je me suis aperçu alors que le pigment était extérieur à la Navicule, dans l'eau, et qu'il passait au travers du filtre en papier.

Mais ce qui est curieux, c'est que l'eau parfaitement claire de filtration laisse déposer

au bout de quelques jours une matière organique verte. Il semble que ce soit le mucilage qui a passé lui aussi et qui entraîne en même temps le pigment vert.

Si, au liquide fortement saturé de Navicules que l'on verse sur le filtre, on ajoute progressivement de l'eau douce on s'aperçoit que l'eau recueillie est d'autant plus verte qu'on a ajouté plus d'eau douce, ce qui indique que la solubilité augmente avec la dilution;

2° Je recueille une quantité importante de Navicules à la surface de l'eau d'une claire et les mets dans une tourie que je remplis d'eau de mer. Les bactéries sulfureuses s'y développent. Quelques mois après je délaie la boue de Navicules dans l'eau et j'en remplis un cristalliseur. Un dépôt noir se forme. Mais l'eau s'évapore, les bactéries cessent de se développer et le dépôt, s'il n'est pas trop épais, devient vert-bleu. A partir de ce moment j'agite très souvent et fortement l'eau pour y délayer le dépôt vert. Au bout de quelques jours l'eau se colore (vert-bleu) et reste très limpide. En général, la coloration de l'eau est surtout évidente sous une grande épaisseur ou sur un fond blanc.

J'ai obtenu cependant une solution particulièrement foncée.

On peut avoir une solution pigmentée d'une autre façon.

Dans un cristalliseur j'ai versé une quantité importante de boue de Navicules et peu d'eau. Au bout de quelque temps l'eau s'est totalement évaporée. La surface du fond en contact avec l'air est verte, mais, si on gratte légèrement on voit que, dessous, la boue est noire, les bactéries sulfureuses continuent à s'y développer par suite du défaut d'oxygénation. Je prends une petite quantité de cette boue que je mets dans un cristalliseur assez grand et je la laisse se dessécher complètement par évaporation. La boue devient entièrement verte. Quand elle est bien sèche je remplis le cristalliseur d'eau douce et je délaie. Le sel qui s'était déposé par évaporation s'y dissout et l'eau devient même très saturée. Le lendemain j'ai déjà une eau nettement verte et quelques jours après une eau bien verte. Il faut toujours agiter fortement et le plus fréquemment possible.

On pourrait croire, malgré la façon dont j'obtiens cette solution, qu'il s'agit d'une culture d'algue unicellulaire par exemple ou, enfin, d'une manifestation de vitalité d'un élément quelconque de la boue de Navicules. Voici d'autres expériences qui vont montrer que nous ne sommes bien en présence que d'une simple solution.

Je retire avec un siphon l'eau verte de mon cristalliseur, en ayant soin de laisser la boue verte au fond. Je remplis à nouveau d'eau douce et je laisse déposer. L'eau est encore un peu salée, mais très peu. Je la siphonne à nouveau et je la remplace par de l'eau douce. Cette fois, j'ai de l'eau pour ainsi dire non salée. J'agite plusieurs fois dans la journée de façon à délayer la boue. Deux ou trois jours après l'eau douce est parfaitement verte et limpide. La substance pigmentée s'est bien dissoute dans l'eau douce. Il est bien certain que le passage aussi rapide d'une eau très saturée dans une eau douce n'aurait pas permis la vie d'un élément, quel qu'il soit.

D'ailleurs, il suffit de prendre un peu de boue verte, de la mettre dans un tube avec de l'acide acétique pur, d'agiter fortement et fréquemment pour avoir une belle solution vert-bleu.

La substance pigmentée est soluble dans l'eau de mer, dans l'eau douce, dans l'acide acétique.

En faisant agir directement l'éther, le sulfure de carbone, l'essence, etc., sur la boue verte, on n'a pas de dissolution. On peut obtenir la dissolution de la substance pigmentée dans ces solvants des graisses d'une autre façon, en partant de la solution dans l'acide par un procédé bien connu.

Je prends 10 cm³ environ de solution verte d'acide acétique. J'ajoute 5 ou 6 cm³ d'essence de térébenthine. J'agite fortement puis j'ajoute de l'eau douce. L'essence de térébenthine vient à la surface et elle seule est maintenant colorée en vert. Je l'isole avec la pipette. Je lave plusieurs fois à l'eau douce pour extraire tout l'acide acétique.

J'opère de la même façon avec l'essence ordinaire, la benzine, le pétrole, le toluène, l'alcool amylique, la créosote, le chloroforme, le sulfure de carbone et tous ces solvants prennent la substance pigmentée à l'acide acétique.

Avec l'éther, j'opère différemment, car l'eau ne sépare pas l'éther de l'acide acétique. Dans la solution verte d'acide acétique à laquelle j'ai ajouté de l'éther, je place un bout de craie. Il y a effervescence et l'éther coloré monte à la surface. Je le recueille aussitôt.

Si je fais évaporer l'une de ces solutions, j'obtiens une substance huileuse verte mais pas de cristaux.

Si j'ai insisté sur la solubilité de la substance pigmentée, c'est que ce phénomène a une grande importance au point de vue biologique, comme on le verra plus loin.

A un autre point de vue, ce qui précède peut être considéré comme un chapitre de l'étude chimique du pigment. C'est pourquoi, sans vouloir faire cette étude d'une façon complète, je vais indiquer maintenant quelques autres réactions de la substance huileuse pigmentée. RAY LANKESTER (1886) et BOCAT (1907) en ont indiqué quelques-unes parmi les plus essentielles.

Si on ajoute quelques gouttes d'HCl ou d'Az O³H à la solution verte, elle passe au bleu. En continuant à ajouter de l'acide, elle passe au violet et s'y maintient. On sait que la phycocyanine passe au rouge carmin en présence d'un excès d'acide.

Si, à la solution bleue ou violette, on ajoute NH³ elle redevient verte, et par l'alcali en excès, on a un précipité de matière organique verte mais sans cristaux.

Je prends de la solution verte initiale et la fais évaporer complètement. Il se forme un dépôt de matière organique verte. Quelques gouttes d'NO³H pur la dissolvent rapidement en violet lie-de-vin. Si j'ajoute progressivement de l'NH³ à cette solution violette, elle finit par passer au vert clair. Vingt-quatre heures après il y a un précipité brun sans cristaux. Je le recueille. Il se redissout en violet dans NO³H.

Exposée à la lumière la solution verte initiale passe au brun puis se décolore après plusieurs mois.

Exposées à la lumière, les solutions de la substance pigmentée dans les solvants des graisses se décolorent plus rapidement.

Le pigment se décolore donc par oxydation.

Dans quelques centimètres cubes de la solution verte initiale ajoutons quelques gouttes d'H²O². Au bout de six heures environ on trouve un dépôt de matière organique brun ou verdâtre. Au microscope on y voit des cristaux vert clair.

Dans quelques centimètres cubes de la solution verte initiale ajoutons de l'alcool absolu. Agitons et laissons reposer. Deux ou trois heures après on trouve, au fond du tube un précipité vert qui, examiné au microscope, montre au milieu d'une matière organique amorphe des granulations vertes bien reconnaissables et de très nombreux cristaux de formes variées et vert clair, comme précédemment.

Si nous ajoutons de l'alcool absolu à de l'eau de mer ordinaire, même très claire, il y a toujours un précipité plus ou moins abondant de matière organique. Mais on n'y trouve ni les granulations vertes ni les cristaux ci-dessus.

Je crois donc que l'alcool dissout très lentement la matière huileuse et libère le pigment qui cristallise.

A mon avis, l'étude spectroscopique ne donnera des résultats intéressants que lorsqu'on aura isolé le pigment de son substratum.

De toutes ces observations, il ressort que nous sommes en présence d'une substance huileuse qui est le support du pigment proprement dit. Il s'agit, semble-t-il, d'un pigment carotinoïde.

Ce que nous devons essentiellement retenir de cette étude, pour la suite, c'est que le *Navicula Ostrearia*, en présence d'une quantité anormale de sucre, présente une activité extraordinaire et qu'il fabrique plus abondamment que de coutume, aux dépens de celui-ci, une substance huileuse pigmentée qu'il excrète, le pigment n'ayant pas, dans ce cas, la même teinte que celui des endochrômes.

Cette substance huileuse est fabriquée par toutes les Diatomées brunes à l'état ordinaire simplement comme produit de l'assimilation du CO_2 ou de l'absorption de matière organique et excrétée. Les gouttelettes peuvent alors être colorées ou non. Dans l'affirmative le pigment ne diffère pas de celui de l'endochrôme.

D'une façon plus générale, on peut dire que les Diatomées libèrent, dans la mer, une substance huileuse qui s'y dissout, cette substance étant le résultat de l'assimilation chlorophyllienne ou de l'absorption de certaines matières organiques jouant le même rôle.

On comprend, dès maintenant, l'importance d'un tel fait au point de vue biologique. J'y reviendrai lorsque j'aurai cité d'autres faits qui nous permettront d'envisager les autres algues marines.

Le *Navicula Ostrearia* nous apparaît comme un excellent révélateur, si je puis dire, de la présence d'un sucre dans le milieu extérieur par suite de l'apparition de ce pigment bleu. Il est évidemment possible, *a priori*, que d'autres substances puissent provoquer le même phénomène. Il y a là des essais à tenter.

Mais examinons les cas observés par SAUVAGEAU (1906) d'une part, sur des *Liebmannia* à Banyuls et par FUNK (1919) sur des *Padina pavonia*, près de Naples. Quelle substance organique peut bien avoir à sa disposition la Navicule épiphyte sur ces algues, sinon un sucre?

Il est sans doute nécessaire d'obtenir une réaction chimique des sucres à partir de ces algues lorsqu'on y trouve la Navicule bleue avant de l'affirmer. La formation du pigment bleu par cette Navicule me paraît constituer une excellente réaction. Mais pourquoi ne la trouve-t-on pas sur toutes les algues et partout? Il faut probablement que l'algue support soit dans des

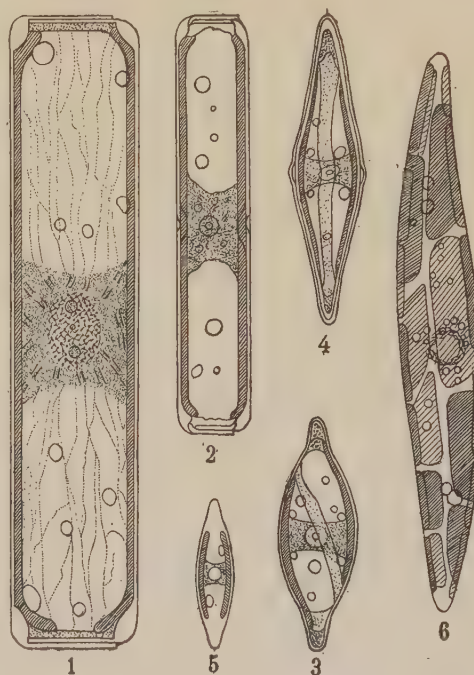


FIG. 2.

Quelques Diatomées avec leurs gouttelettes huileuses. — 1. *Pinnularia maior* (d'après LAUTERBORN, 1896; Taf. II, fig. 18, gr. 600); 2. *Pinnularia viridis* Ehrbg (d'après PFITZER, 1870-1871; Taf. 2; fig. 1, gr. 800); 3 et 4. *Navicula cuspidata* Kütz (d'après PFITZER, 1870-1871; Taf. 3, fig. 4 et 7, gr. 900); 5. *Navicula alpha* (d'après OTTO HEINZERLING, 1908; Taf. 1, fig. 18); 6. *Pleurosigma* sp., gr. 830.

conditions particulières de nutrition. Ce sont les observations de COMÈRE qui me font penser à cette condition. COMÈRE a constaté une grande activité provoquant aussi une pigmentation anormale chez les Diatomées vivant sur des algues variées ou sur des *Nymphæa*. Il fait remarquer que le milieu était toujours très riche en matières organiques dissoutes et que l'algue support elle-même présentait constamment une activité particulière. Il dit : « Il serait peut-être permis d'attribuer aussi, dans le cas spécial qui nous occupe, une influence particulière à la plante qui sert de support à la Diatomée épiphyte (1). »

Cette influence se précise, maintenant que nous pouvons rapprocher d'autres faits de ceux-là.

Il me semble que nous sommes en présence d'une excellente mise en évidence de l'émission d'un sucre dans l'eau par l'algue support.

Les Algues excrètent-elles normalement, dans l'eau, une substance organique ?

L'importance biologique d'une telle constatation serait considérable, aussi nous conduit-elle à nous demander s'il s'agit du résultat normal et général du métabolisme des algues. Cette hypothèse, à laquelle nous arrivons, demande à être résolue séparément. C'est cette face du problème que PÜTTER a envisagée. Il a cherché à montrer que les algues produisaient un excès de substance organique et il a émis l'hypothèse que cet excès était libéré dans l'eau où on le trouvait en solution.

En 1907, il dit déjà : « Les combinaisons carbonées en solution dans la mer sont le produit des échanges de substances des organismes marins, spécialement des Algues et des Bactéries. »

En 1912, il est plus précis : « En ce qui concerne la question de l'origine de la nourriture dissoute, il était montré que celle-ci est en augmentation quantitative dans l'eau de mer où des algues ont été ajoutées, pourvu qu'il soit permis à la lumière de tomber dessus. Cette matière nutritive doit, par conséquent, être considérée comme un produit de l'assimilation des algues marines. »

Dans son travail de 1924, il s'occupe plus directement de la question. Il évalue approximativement la quantité de sucre fabriqué par les algues de la Baie de Kiel. Je n'entrerais pas dans le détail de ses calculs. Voici les observations qu'ils lui suggèrent : « ... C'est maintenant que doit être posée la question du siège du sucre fabriqué par les algues. La première hypothèse, et la plus naturelle, selon laquelle les sucres — peut-être sous forme d'amidon ou de graisse (chez les Diatomées) — seraient emmagasinés dans le corps de l'algue, apparaît comme impossible, ainsi que cela ressortira des considérations suivantes. L'été, le volume des algues atteint en moyenne 0 cm³ 5 par litre. Leur teneur en substance organique pouvant être évaluée à 15 pour 100, cela correspondra à une « Sauerstoffkapazität » de 0 mg. 22 pour 1 cm³, en chiffres ronds. Lorsque cette dernière valeur subit des variations considérables sous l'influence de conditions différentes de nutrition, il est impossible de supposer que l'algue n'emmagasinera pas la même quantité de matières que celle qui se produit dans les conditions normales de nutrition. La division cellulaire ne se produit jamais pendant les heures ensoleillées du jour, les matières assimilées par photosynthèse

(1) NOTA.— COMÈRE parle d'une sorte de mimétisme parce que les Diatomées fabriquent un pigment vert sur des algues vertes. Le mimétisme n'est que dans notre imagination, puisque le *Navicula ostrearia* qui fabrique un pigment bleu devient par cela même très apparent sur l'algue brune où il se développe.

ne pouvant être, incontinent, transformées en la substance constitutive des nouvelles cellules.

Si la « Sauerstoffkapazität » de 0 cm³ 5 de thalle d'Algue atteint 0 mg. 11, la supposition qu'une masse de sucre correspondant à 0 mg. 1 d'O. éliminé puisse être emmagasinée en elle, sous quelque forme que ce soit, est fortement exagérée. Mais lorsque, dans les heures éclairées d'une journée 2 mg 42 d'O. par litre sont éliminés on ne trouvera non pas 1/24 mais pas même 1/30 de cette masse d'O. sous forme de matière de réserve dans le corps des Algues. Il semble alors plus probable que l'autre quantité de sucre fabriqué quitte le corps de l'Algue et se dissout dans l'eau.

Soulignons encore une fois que nous ne pouvons rien affirmer en ce qui concerne l'identité chimique des produits assimilés par le travail intracellulaire des Algues. Il se pourrait que le produit de la photosynthèse ne soit encore aucun sucre figuré mais quelque formaldéhyde et aussi bien du glucose ou même un polysaccharide, un amylicé quelconque ou peut-être une combinaison azotée qui serait ainsi abandonnée à l'eau.

Récemment, deux auteurs, T. GAARDER et H. GRAN (1927), ont apporté un complément sérieux aux calculs de PÜTTER. Voici leurs conclusions : « Il serait ainsi produit 3-5 fois autant de matière organique qu'il en est utilisé simultanément par l'Algue pour son développement.

« Nous considérons comme extrêmement probable que le surplus est sécrété par les algues du plancton et qu'il est en solution ou en « colloid-disperse form » dans l'eau de mer et que, en conséquence, la grande quantité de matière organique « soluble » que PÜTTER et RABEN trouvent dans l'eau de mer peut être considérée comme le produit du métabolisme des algues. »

Ils ne sont cependant pas tout à fait d'accord avec PÜTTER sur la proportion de matière organique sécrétée.

c) Le processus du verdissement des Huitres

J'ai montré, dans le paragraphe A, que le pigment du *Navicula Ostrearia* était la cause du verdissement des Huitres. Nous allons maintenant établir le déterminisme de la marche de son absorption. Nous savons qu'il se présente à l'Huitre associé à une substance huileuse en solution dans l'eau. Mais je suis parvenu à établir le processus de la marche de la pigmentation des Huitres avant de connaître sous quelle forme le pigment était absorbé. Si j'ai parlé de celle-ci avant, dans ce travail, c'est pour bien faire ressortir toute l'importance du phénomène du verdissement, qui ne devient qu'un cas particulier d'un phénomène très général.

Il n'y a pas ici à reprendre les opinions des nombreux auteurs qui se sont occupés de la question. Ils ont tous repris, à peu de chose près, l'hypothèse de GAILLON qui dit : « Chaque molécule d'eau d'un parc en verdure, ou en état de faire verdier les Huitres, contient plusieurs centaines de Navicules vertes ; elles sont alors humées et digérées par l'Huitre. Ce Mollusque s'en repaît abondamment et continuellement, il devient tendre, prend de l'embonpoint et une saveur particulière ; » puis : « Comment se fait dans l'Huitre l'imprégnation de la couleur verte, me demandera-t-on?... Comme se fait la coloration en rouge des os des animaux auxquels on donne la garance pour nourriture. » Ainsi les Navicules pénètrent dans le tube digestif, le pigment est absorbé, pénètre dans le sang et, de là, va colorer les tissus. Mais il ne

disait pas par quel mécanisme le pigment y arrivait. C'est RAY LANKESTER, le premier en 1885-86, qui émit une hypothèse sur ce mécanisme. Partant de ses observations histologiques il suppose que le pigment était absorbé du sang par les cellules glandulaires de l'épithélium, ces cellules pouvant se déplacer pour accomplir cette fonction.

Après la découverte de la phagocytose, cette hypothèse a fait place à une autre. PELSENER, en 1892, s'exprime clairement à ce sujet : « Le pigment insoluble des *Navicula* passe dans le sang ; et l'on constate expérimentalement qu'il se porte dans les branchies et les palpes.. Les granulations pigmentaires insolubles constituent un produit nuisible dans le sang, par leur accumulation continue ; elles sont mangées par les corpuscules sanguins. Ceux-ci, chargés de granulations, passent dans les branchies et les palpes, lacunes sanguines librement sailantes dans l'eau, dont le sang n'est guère séparé que par la couche épithéliale ; ces corpuscules pénètrent alors entre les cellules de l'épithélium ou détruisent certaines d'entre elles de façon à arriver à la surface extérieure de l'organe. »

C'est cette opinion qui a prévalu jusqu'à nos jours. Il faut bien dire que c'était l'hypothèse paraissant se rapprocher le plus de la réalité des faits, au moment où la physiologie des invertébrés aquatiques était très peu connue. Mais tout de même ce n'était qu'une hypothèse et il était nécessaire de la vérifier expérimentalement, ce que personne n'a fait.

Une autre idée sur le mécanisme de la pigmentation a cependant été mise en avant dès 1893, mais elle n'a pas eu d'écho parce que, de toute évidence, elle apparaissait comme un simple raisonnement, sans précision d'ailleurs, ne reposant sur aucune observation particulière. C'est JOURDAIN qui, en 1893, s'exprimait ainsi : « ... Mais localisée dans les branchies, les palpes buccaux et l'intérieur des voies digestives... Il est essentiel de remarquer que, soit pour les besoins de l'alimentation qui est continue, soit pour l'exercice de la respiration, les particules de matière verte, en suspension dans l'eau ambiante sont mises nécessairement en contact avec les parties que je viens d'indiquer. L'examen microscopique des organes verdis me montra que les cellules superficielles étaient teintées en vert. Plusieurs de ces cellules retenaient des particules de matière verte et il me sembla que, par l'effet de l'assimilation du pigment par la cellule, celui-ci passait dans la masse protoplasmique.

« Je m'arrêtai donc à cette idée que les éléments cellulaires des tissus verdis étaient teints par le passage dans le protoplasma, du pigment de la matière verte, dont l'Huitre se nourrit abondamment et qui contribue à l'excellence de sa chair. »

On va voir que cette hypothèse isolée correspond, malgré tout, à la réalité. Il est intéressant de noter que, dès 1893, JOURDAIN admettait la possibilité de l'assimilation directe du pigment par les cellules de la surface extérieure de l'animal. Il ne pressentait certainement pas l'importance d'un tel phénomène.

Dès le début de mes recherches, je me suis trouvé en présence de la première hypothèse ou, du moins, j'ai considéré comme tel ce qui paraissait être envisagé comme un fait sur lequel on ne discutait pas. C'est beaucoup plus tard que j'ai connu le travail de JOURDAIN.

Toute hypothèse devant être vérifiée expérimentalement — la meilleure méthode en biologie, comme toujours d'ailleurs, étant d'aller tout de suite et brutalement aux faits sans perdre son temps à discuter des hypothèses et à ajouter des raisonnements à d'autres raisonnements — je me suis demandé quels moyens mettre en œuvre pour vérifier si la pigmentation des branchies, des palpes et du bord du manteau était bien due à une absorption intestinale suivie d'excrétion leucocytaire à ce niveau. Examiner ce qui a lieu lorsqu'on supprime la possibilité d'une absorption par la voie stomacale et intestinale, telle est la première idée qui vient à l'esprit. Pour cela il me fallait, soit obturer les ouvertures buccale et anale d'une

Huître mise à verdir, soit supprimer brutalement l'estomac. Il y a une troisième solution, celle qui consiste à faire vivre une Huître dans une eau pigmentée de façon que ses branchies et une partie de son manteau seuls plongent dans le liquide, en ayant soin que ni la bouche ni l'anus n'entrent en contact avec ce liquide pendant tout le temps de l'expérience.

Le premier moyen ne paraît pas réalisable expérimentalement. Le dernier est celui qui donne les plus beaux résultats, des résultats indiscutables; j'en parlerai en dernier lieu.

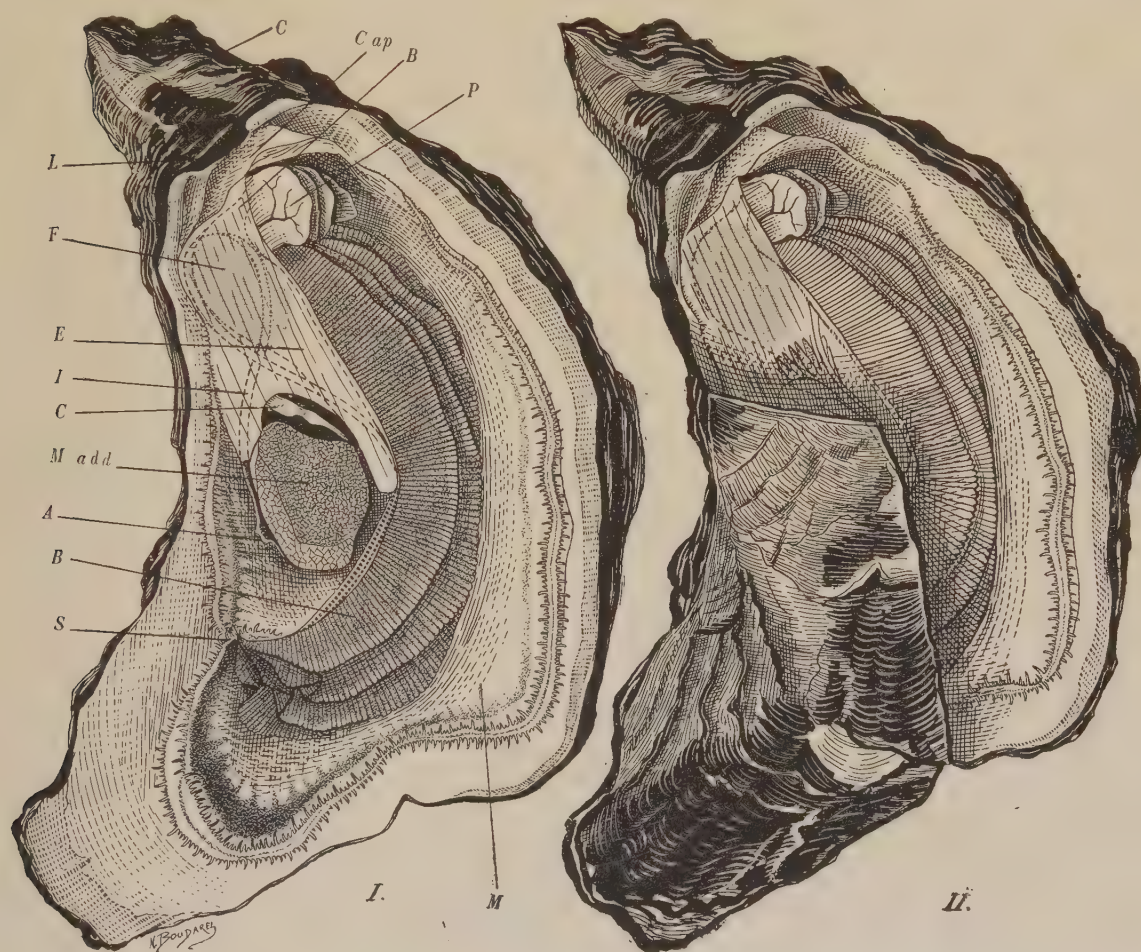


FIG. 3. — I. *Gryphaea angulata* Lamk dans sa valve gauche. Le lobe droit du manteau est enlevé. Cr. : Crochet; L. : Ligament; Cap. : Capuchon céphalique; B. : Bouche; E. Estomac; I. : Intestin; F. : Foie; A. : Anus; P. : Palpes; Br. : Branchies; C. : Cœur dans la péricarde; M. add. : Muscle adducteur; M. : Manteau (lobe ventral); S. : Soudure des lobes du manteau et terminaison des branchies.

II. La même préparée pour l'expérience. Une portion de la valve supérieure droite reste adhérente au muscle adducteur. En réalité, le lobe gauche du manteau n'est pas enlevé.

C'est le second que j'ai employé d'abord et voici le détail de mes premières expériences. Enlever la moitié de la valve supérieure à une Huître sans mutiler ses tissus est un procédé classique que les auteurs américains et anglais qui ont observé les courants ciliaires de la chambre branchiale des Lamellibranches ont employé. On sait, en effet, qu'une Huître dont

le muscle adducteur est intact peut vivre aussi longtemps qu'une Huitre normale lorsqu'on lui enlève une partie de sa valve supérieure même avec le ligament de la charnière. L'essentiel est de toujours laisser une portion de valve supérieure adhérente au muscle.

Pour exécuter cette opération, je la pose entre les deux mors d'un étau et, avec une scie à métaux je scie longitudinalement puis transversalement la valve supérieure, que j'ai choisie aussi plate que possible. Il faut une grande habitude pour ne pas toucher le manteau sous-jacent. Il suffit pour cela de s'arrêter avant la fin et de faire une légère pression sur la scie qui arrache la coquille. On obtient alors une Huitre comme celle représentée ci-dessus.

En perforant le manteau à l'endroit convenable, on voit la partie de l'estomac, avec le début de l'intestin terminal, qui déborde de la masse viscérale. Je coupe avec des ciseaux fins cette partie stomacale et intestinale; par une incision, j'ouvre ensuite tout le reste de l'estomac jusqu'à la bouche, puis je lave à l'eau de mer. Cette Huitre placée dans l'eau de mer renouvelée chaque jour répond encore, trois jours après, aux attouchements du manteau ou du muscle en rapprochant le bout de valve supérieure qui lui reste de la valve inférieure. D'autre part, on peut facilement se rendre compte que les cils des branchies battent toujours.

Aussitôt préparée, je place une Huitre dans un cristalliseur contenant de l'eau fortement colorée en vert par du pigment de Navicules. En vingt-quatre heures les branchies sont bien vertes. Au microscope, je constate que le reste de l'intestin terminal n'est pas pigmenté.

Il n'y a donc aucun doute, le verdissement a eu lieu par pénétration directe du pigment dans l'épithélium branchial.

Mais, par la suite, en étudiant l'action de substances variées, que je relaterai d'ailleurs plus loin, je me suis aperçu que certaines substances pénétrant dans l'épithélium branchial lorsque l'animal est mutilé, en particulier lorsque la circulation est fortement troublée, n'y pénètrent pas à l'état normal. On peut se demander alors si le pigment n'est pas comme ces substances et si sa pénétration directe ne s'était pas faite uniquement par suite de la mutilation au cours de laquelle je coupe les vaisseaux afférents des branchies.

L'observation sans mutilation devenait nécessaire et je l'ai faite. Au cours de mes expériences, j'avais noté la rapidité avec laquelle les branchies se pigmentent lorsque l'Huitre a été laissée pendant quelques temps hors de l'eau. J'ai pensé que je pouvais mettre à profit ce fait pour voir si les branchies ne se pigmentent pas avant l'intestin. Voici le résultat des expériences que j'ai entreprises à ce sujet, à l'île d'Oléron, en avril 1925. Les branchies des Huitres ont, à l'état ordinaire, dans cette région, une teinte gris-vert et l'on conçoit que le début du verdissement soit difficile à constater dans ces conditions. Il est nécessaire d'utiliser des Huitres dont les branchies ont une teinte gris-jaunâtre. J'avais à ma disposition des petites Huitres venant des rochers d'Angoulins, dont les branchies avaient la teinte désirée.

Ces Huitres ont été mises dans un « dégorgeoir » dont le fond était abondamment recouvert de Navicules, le 14 avril 1925. J'en ouvre une le 16 avril; les branchies présentent des surfaces à peine vertes et d'autres encore jaunâtres. Je note que la pigmentation des branchies a lieu très irrégulièrement. L'estomac et l'intestin ne présentent aucune pigmentation.

J'en ouvre une autre le 18 avril. Les branchies sont bien vertes, l'intestin également.

Ainsi, si l'épithélium intestinal verdit assez rapidement, il n'en ressort pas moins que l'épithélium branchial commence toujours à verdier le premier.

D'autres expériences faites avec des Huitres blanches placées dans un cristalliseur rempli d'eau de mer verte (pigment de Navicules en solution) m'ont donné les mêmes résultats.

Cette nouvelle série d'expériences nous montre que la première était bien concluante et que le pigment pénètre bien directement dans l'épithélium des organes pigmentés.

Enfin il me reste à en décrire une autre aussi décisive. Elle consiste à faire vivre une Huitre dans une eau pigmentée de façon à ce que ses branchies seules y soient plongées. Comme la pigmentation a lieu rapidement, la vitalité de l'animal n'est pas diminuée.

Je suspens une Huitre, dont la valve supérieure est à demi ouverte, ce qui ne constitue pas une mutilation comme je l'ai dit plus haut, à un support quelconque à l'aide d'une ficelle et au-dessus d'un cristalliseur contenant de l'eau verte (pigment de Navicules en solution). Je peux surélever le cristalliseur à volonté, de façon que l'Huitre arrive à plonger dans le liquide. Par ce moyen, j'immerge l'Huitre de telle façon que l'anus et la bouche restent hors de l'eau et qu'une portion seule des branchies y plonge, la portion postérieure ou la médiane seulement. Je recouvre le tout d'une cloche pour éviter la dessiccation trop rapide des tissus hors de l'eau.

Lorsque l'expérience est terminée, je m'assure que l'Huitre plongée entièrement dans de l'eau de mer retrouve à peu près sa vitalité primitive.

J'ai fait plusieurs fois l'expérience et j'ai toujours constaté que, vingt quatre ou trente six heures après, selon la concentration du pigment dans l'eau, seule la portion des branchies qui plonge dans le liquide est verte.

Comme complément, on peut s'assurer encore que ni l'estomac ni l'intestin ne sont pigmentés.

Nous pouvons alors conclure d'une façon absolument certaine : le pigment est absorbé directement par la surface extérieure du corps de l'Huitre de la même façon que par l'épithélium intestinal. Il est entendu, une fois pour toutes, que lorsque je dis absorbé je ne sous-entend, pas utilisé. Ce sont deux problèmes distincts que j'étudierai séparément. Le problème de l'utilisation sera envisagé plus loin quand j'aurai montré ce qui est absorbé.

d) Le verdissement chez d'autres Invertébrés

Les Huitres ne sont pas seules à absorber le pigment vert provenant de la Navicule. Déjà GAILLON, en 1820, disait que des actinies placées dans les claires en verdure « ne tardèrent pas à en prendre la teinte ».

Puis J. GUÉRIN, en 1904, dans sa Note sur les Mollusques comestibles des côtes de la Charente-Inférieure fait remarquer : « C'est surtout dans les claires d'Arceau et les claires de la Brande que se pratique le verdissage, étendu d'ailleurs à beaucoup d'autres Lamelli-branches comestibles (*Cardium edule* L., *Mytilus edulis* L., *Solen vagina* L., *Solen ensis* L. etc.).

Avant lui, en 1896, PH. ROUSSEAU dans son « Catalogue des Mollusques de l'île de Ré » disait : « Tous les Mollusques, d'ailleurs, plongés et séjournant dans l'eau de la claire y verdissent comme l'Huitre. J'ai déjà signalé ce fait en parlant de la Moule. »

Il est évident que l'attention se porte avant tout sur les Mollusques vivant dans le même milieu que les Huitres, sur un fond vert. J'ai constaté moi-même le verdissement chez *Tapes decussatus* L., *Mytilus edulis* L., *Cardium edule* L., *Scrobicularia piperata* Gmel., *Venus mercenaria* L. Je l'ai provoqué chez *Pecten varius* L. qui ne se rencontre pas sur les fonds à Navicules et chez *Venus verrucosa* L.

Je l'ai noté chez *Patella vulgata* L., dont les branchies et aussi la sole pédieuse, absorbent le pigment. Il est moins visible dans la sole pédieuse qui est toujours plus ou moins gris-noir.

Les branchies de *Littorina littorea* L. verdissent également.

Il n'y a pas que les Mollusques qui présentent ce phénomène. J'ai trouvé, dans mes cultures, de nombreux Protozoaires pigmentés. Les Protozoaires parasites des branchies de Patelles, de *Carcinus* et sur les Copépodes sont bourrés de granulations vertes.

Sur les fonds verts de la côte de l'île d'Oléron, j'ai trouvé une espèce d'Actinie dont l'épithélium externe était fortement pigmenté. A l'état naturel il est blanc.

Dans mes cultures j'ai trouvé quelques exemplaires d'un Turbellarié polyclade bien pigmentés.

Entre l'île d'Oléron et le continent, on ne trouvait l'*Asterias rubens*, jusqu'à ces dernières années et en très petite quantité, qu'à partir du niveau où l'on cultive l'*Ostrea edulis*, mais pas plus haut. Or, depuis l'envahissement des parcs à *Ostrea edulis* par les Moules (*Mytilus edulis*), on en trouve des quantités considérables. Ils ont détruit les bancs de Moules en divers endroits. Maintenant on en rencontre dans les zones plus hautes, près de la côte, dans les parcs à portugaises où se développe le *Navicula Ostrearia*. Un Ostréiculteur m'en a rapporté un exemplaire pris près de Saint-Trojan, dont les extrémités distales des pieds ambulacraires, en particulier les ventouses, étaient pigmentées.

SPÄRCK, dans son travail de 1925, signale bien qu'il a trouvé un *Asterias* dont les mêmes organes étaient colorés, mais, comme il rattache la pigmentation qu'il a observée à d'autres causes, je ne peux pas tenir compte ici de ses observations.

Dans la vase du fond des claires, on trouve abondamment des *Nereis diversicolor* O. F. MÜLLER (1) colorés en vert d'une façon absolument certaine par du pigment de *Navicula*. J'ai provoqué le verdissement d'Annélides variées prises sur les coquilles d'Huîtres blanches venant du Bassin d'Arcachon, en les faisant vivre dans de l'eau pigmentée au Laboratoire.

Enfin chez les Arthropodes, j'ai observé l'absorption du pigment vert par les Copépodes qui en présentent dans leur hypoderme et dans leurs œufs ; ces derniers se pigmentent fortement. Les branchies des *Carcinus maenas* P. verdissent aussi et je montrerai plus loin que la carapace elle-même, dans certaines conditions, présente une coloration particulière en rapport avec la présence de *Navicula Ostrearia*.

Ici, en effet, je n'ai fait qu'énumérer les animaux qui absorbaient le pigment vert. Plus loin je reviendrai sur chacun d'eux pour montrer comment il s'y présente.

e) Le pigment dans le protoplasma des épithéliums verts de l'Huître

L'Huître a été le seul animal étudié à ce point de vue. C'est elle dont je parlerai d'abord. Je passerai ensuite aux autres animaux que j'ai cités.

Mes observations, comme celles relatées dans les pages précédentes, ont porté presque exclusivement sur *Gryphaea angulata*. Mais, à ce point de vue, il y a de très petites différences avec *Ostrea edulis*. Je les signalerai au cours de l'exposé.

HISTORIQUE

On avait toujours noté que les branchies, les palpes et le bord du manteau chez les Huîtres très vertes et plus particulièrement chez *Ostrea edulis* étaient les seuls organes présentant une pigmentation. C'est JOURDAIN, en 1893, qui a remarqué pour la première fois, je

(1) Détermination faite par M. FAUVEL, que je remercie bien sincèrement.

crois, que « l'intérieur des voies digestives » l'était aussi. Et CARAZZI, en 1986, a précisé ce dernier point en signalant que seuls l'œsophago-pharynx et l'intestin moyen et terminal étaient aussi pigmentés à l'exception de l'estomac. C'est cet auteur qui a noté le premier la présence du pigment dans le foie.

Si, jusqu'à présent, dans les questions qui nous ont préoccupé, dans les chapitres précédents, j'ai omis de parler du travail de CARAZZI, c'est parce que ce dernier a repoussé systématiquement l'action de la Navicule. Mais l'examen histologique du pigment qu'il a fait doit retenir l'attention, car c'est le travail le plus important qui existe sur la question. Et cet examen peut être fait objectivement d'une façon exacte, même si l'origine du pigment repose sur une hypothèse erronée. Je reviendrai d'ailleurs à nouveau sur cette hypothèse qui s'appliquait, ainsi qu'on le verra, à un autre genre de faits.

Les seuls travaux, basés sur les observations et non sur des raisonnements, traitant de la forme sous laquelle se présente le pigment dans les tissus sont ceux de RAY LANKESTER (1885-86), J. CHATIN (1893-94-96), CARAZZI (1896-97), puis P.-H. MITCHELL et R.-L. BARNEY (1917). Mais ceux de RAY LANKESTER et de CARAZZI sont essentiels. Les observations des deux autres se rattachent à celles de RAY LANKESTER.

RAY LANKESTER a fait des examens sur le frais et aussi sur des coupes. Pour lui, le pigment vert est localisé, dans les branchies et les palpes, à la surface de ces organes, dans certaines cellules de l'épithélium qui sont de larges et subsphériques « secretion cells ». La couleur verte est concentrée dans ces cellules sécrétrices et est localisée dans les granules qu'elles contiennent.

Dans les branchies comme dans les palpes, ces glandes paraissent seules pigmentées dans l'épithélium.

Sur une section transversale de la branchie il retrouve la même disposition de ces cellules pigmentées mais les signale aussi à la face interne de la lamelle branchiale.

Il fait remarquer plus loin que ces cellules de sécrétion élaborent les grains dont elles sont remplies et qui deviendront du mucus. Elles se trouvent, dit-il, aussi bien dans les Huîtres ordinaires que dans les Huîtres vertes.

Puis il remarque, en déchirant un filament branchial sous le microscope, que ces cellules se libèrent de l'épithélium et qu'une fois isolées elles sont nettement amœboïdes. Il pense alors que ces cellules, par leurs mouvements amœboïdes dans l'épithélium, peuvent aller prendre le pigment dans les tissus sous-jacents, où il est apporté par la mer, pour le transporter à la surface où il sera rejeté.

Il est une observation sur laquelle je veux insister. La voici traduite à peu près textuellement : « Il est difficile de décider absolument s'il n'y a pas une faible trace de pigment bleu-vert diffusé à travers le protoplasma de toutes les cellules épithéliales, mais il n'y a aucun doute que le pigment est concentré fortement dans les « secretion cells » ; et je suis incliné à regarder l'apparence d'une teinte verte très pâle diffuse dans la substance du filament branchial comme due à des conditions optiques... la couleur de la cellule de sécrétion étant transmise par réfraction et réflexion à la substance environnante. »

Cette explication seule nous permettra de nous expliquer dans quelles conditions s'est placé l'auteur.

En remarquant que les « Macroblastes » de J. CHATIN correspondent aux « cellules sécrétrices » de LANKESTER, nous pouvons dire que les Notes de cet auteur n'apportent rien de nouveau sur la façon dont se présente le pigment.

Quant à P.-H. MITCHELL et R.-L. BARNEY, ils se rangent à l'avis de RAY LANKESTER en insistant sur le fait que les « cellules sécrétrices » sont amœboïdes lorsque, par pression, on

les isole. Ils se demandent alors si ces cellules ne seraient pas de simples leucocytes et sans qu'ils le disent d'une façon explicite, cela nous ramènerait à la théorie de l'absorption stomacale suivie d'excrétion leucocytaire au niveau des tissus pigmentés.

Pour CARAZZI, les « cellules de sécrétion », ou « macroblastes » de J. CHATIN, ne sont jamais colorées. Pour lui, la substance verte est contenue dans toute la partie distale de la cellule cylindrique épithéliale, non à partir de la base des cils vibratiles, mais dans la zone un peu plus profonde, supérieure au noyau. Dans le protoplasma de cette cellule, la marennine a une apparence diffuse, tout au plus finement granuleuse. En se rapprochant de la partie basale de cet épithélium, on voit le pigment se rassembler en grumeaux ayant un diamètre de 1 à 2 μ .

Et CARAZZI pense que les observations des auteurs précédents sont erronées. L'erreur d'observation sur les coupes viendrait de ce que les auteurs ont utilisé une solution chromique ou osmique et l'erreur faite sur le frais, par RAY LANKESTER, serait due à une illusion d'optique ; la cellule de sécrétion étant transparente laisserait voir le pigment immédiatement au-dessous.

RAY LANKESTER a fait remarquer que le protoplasma paraissait légèrement vert par suite d'un phénomène d'optique. CARAZZI n'a fait que retourner l'argument. Le jugement est tout de même un peu trop rapide.

En face de deux opinions aussi contradictoires sur un simple fait d'observation relevé par de tels auteurs, il me semble que la première idée qui vient à l'esprit est qu'ils se sont placés dans des conditions différentes d'observation, je veux dire qu'ils ont examiné des Huitres possédant, sans aucun doute, une pigmentation différente. Ou bien il s'agit de deux phénomènes sans rapport, ou bien, si nous sommes en présence du même phénomène, il y a certainement des variations au cours de son évolution.

En réalité, l'aspect du pigment dans l'épithélium varie au cours de la pigmentation.

OBSERVATIONS PERSONNELLES

1° *Observations sur le frais.* — La plupart de mes observations à ce sujet ont été faites sur le frais en détachant un lambeau de feuillet d'une lamelle branchiale que j'examinais aussitôt au microscope.

L'examen sur le frais doit constituer la base des observations lorsqu'il s'agit des pigments parce que les agents employés pour la fixation peuvent modifier plus ou moins profondément leurs rapports avec le protoplasme.

a) Huitre faiblement verte (ayant séjourné quatre ou cinq jours dans une claire verte).

Examinons une Huitre peu pigmentée. En l'ouvrant, nous voyons que les branchies, les palpes et l'intestin sont verts ; le bourrelet du bord du manteau avec ses papilles ne l'est pas encore.

Coupons un lambeau de feuillet d'une lamelle branchiale. Portons-le, entre lame et lamelle avec un peu d'eau de mer, sous le microscope. A un fort grossissement (720) on remarque, dans chaque filament branchial légèrement aplati par la lamelle, deux rangées symétriques de grosses « cellules » plus ou moins sphériques bourrées de grosses granulations sphériques, ce sont les « secretions cells » de RAY LANKESTER, les « macroblastes » de J. CHATIN, les « glandes à mucus », les « cellules sécrétrices » des autres auteurs.

Elles sont dans le protoplasma épithélial au niveau des deux rangées également symétriques de gros cils latéro-frontaux, c'est-à-dire à la partie distale du filament.

Si on examine ce dernier de côté on voit qu'il y a, à sa partie proximale, deux autres rangées symétriques de ces « cellules ». D'autre part, les bourrelets et le sillon de la partie libre des feuillets branchiaux en sont particulièrement bourrés.

Le filament branchial présente exactement l'aspect qu'a signalé RAY LANKESTER. Les

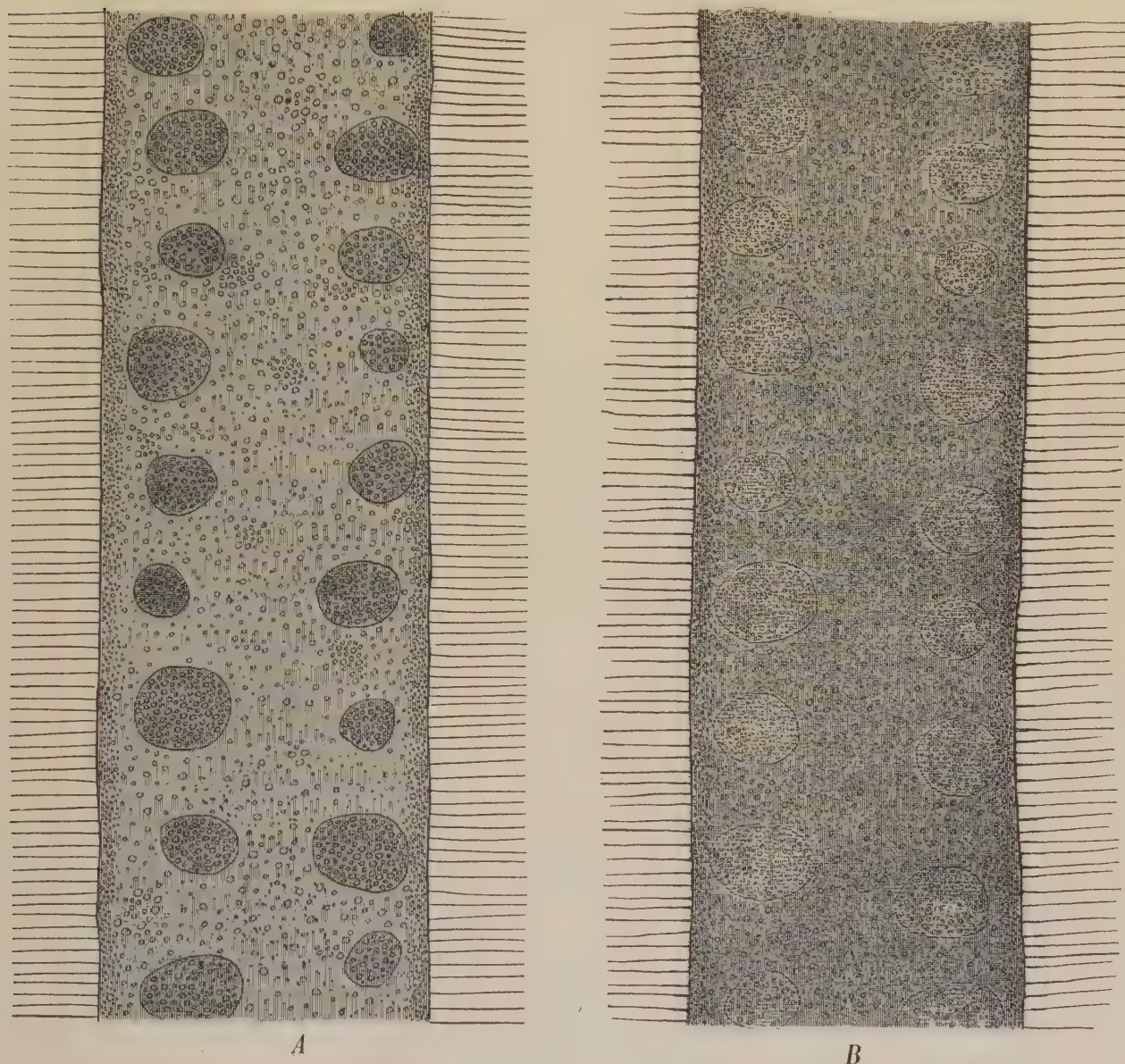


FIG. 4. — Filament branchial d'Huître verte, vu sur le frais par la face supérieure. — A Filament d'une branchie peu pigmentée; B Filament d'une branchie très pigmentée.

« cellules de sécrétion » sont parfaitement pigmentées ; et après de nombreuses observations je peux dire que ce n'est pas le résultat d'un phénomène d'optique. Leurs grosses granulations sont nettement vert pâle. Mais, contrairement à ce que pensait LANKESTER le protoplasma

environnant est lui-même effectivement pigmenté, et ce n'est pas là, non plus, un phénomène d'optique.

A ce stade (fig. 4 : A) le protoplasma ne paraît pas plus pigmenté que l'une des granulations des « cellules de sécrétion », mais les granulations étant nombreuses et accolées presque les unes aux autres, leur ensemble forme une tache verte qui attire le regard et tranche plus nettement sur l'ensemble du protoplasma environnant.

Examinons maintenant attentivement ce protoplasma. Nous y voyons de très nombreuses petites granulations vertes qui sont très apparentes au grossissement 1060. Elles y sont dis-

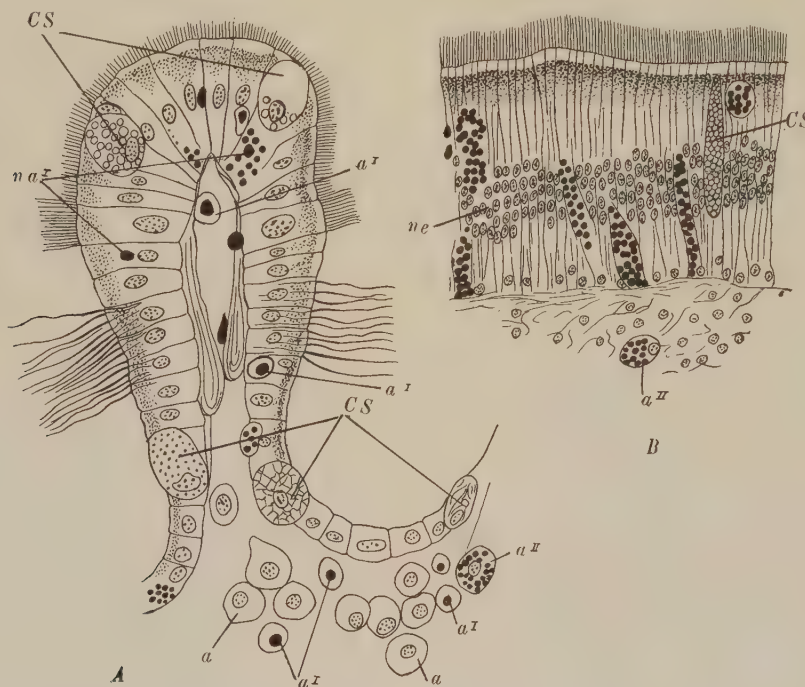


FIG. 5. — A Coupe transversale dans un filament branchial (CARAZZI 1897, tav. 18, fig. 3); B. Fragment d'une section dans l'intestin (CARAZZI 1897, tav. 18, fig. 12); C. s., Cellule de sécrétion; *naI*, Noyau d'un amœbocyte; *a* et *aI*, Amœbocytes; *aII*, Amœbocytes avec des granulations vertes; *Ne*, Noyaux de l'épithélium.

NOTA. — Les figures de CARAZZI sont en couleur. Ici le pointillé occupe la zone pigmentée; les granulations noires, moyennes, représentent les granulations vertes de la base interne de l'épithélium et des Amœbocytes.

posées irrégulièrement. On peut alors se demander si, à ce stade, la pigmentation du protoplasma épithélial est due uniquement à ces granulations ou s'il n'y a pas, en plus, une teinte vert pâle générale. Il est difficile de répondre. Sur des coupes, le protoplasma ne paraît pas pigmenté. Il faut une forte pigmentation et des coupes relativement épaisses pour y voir le pigment.

En observant sur le frais des branchies plus vertes on remarque nettement que le protoplasma épithélial possède à la fois une teinte générale et des granulations vertes.

Sur le frais même on peut observer, en regardant un filament isolé que, entre la bordure ciliée et la partie pigmentée il y a une zone transparente qui paraît être une zone de différenciation du protoplasma au contact du milieu extérieur.

Revenons aux « cellules de sécrétion ». Si nous examinons de la même façon des branchies d'Huitres blanches, nous voyons que chaque filament branchial possède ses deux rangées distales et deux proximales de « cellules » granuleuses caractéristiques. Ici elles ne présentent aucune coloration spéciale. Ce fait a été constaté et signalé par RAY LANKESTER, mais comme il n'avait vu que leur pigmentation à l'exclusion de celle du protoplasma environnant chez l'Huitre verte, il pensait que la coloration de l'épithélium branchial était due à l'activité de ces « cellules ».

Or nous savons maintenant que le protoplasma est nettement pigmenté et nous allons voir par la suite que, au cours du développement du phénomène, seule la coloration du protoplasma augmente.

Nous pouvons nettement conclure que les « cellules de sécrétion » ou « macroblastes » ou « cellules muqueuses » ne jouent aucun rôle spécial dans la pigmentation des tissus.

Avant de passer à l'examen d'Huitres très vertes je voudrais profiter de l'occasion pour dire quelques mots sur ces « cellules ». Il est classique de les considérer comme des glandes unicellulaires sécrétant le mucus.

Or, en pressant légèrement un filament branchial entre lame et lamelle on en isole un certain nombre. Elles sont nettement amœboïdes, comme l'a noté RAY LANKESTER et surtout MITCHELL et BARNEY.

J'ai remarqué alors que dans beaucoup de ces « cellules », au moment où elles se séparent du protoplasma épithélial, les granulations perdent la netteté de leurs contours et souvent on se trouve en présence d'un simple leucocyte bourré de matière étrangère.

D'autre part, j'ai mis à jeûner une Huitre, dans une eau parfaitement décantée et filtrée, pendant vingt jours. L'examen d'un lambeau de branchie de cette Huitre montre un nombre insignifiant de « cellules de sécrétion » et celles qui subsistent paraissent profondément modifiées comme si les granulations intérieures étaient l'objet d'une digestion intracellulaire, sur place.

Mes observations à ce sujet sont trop peu nombreuses pour me permettre d'émettre autre chose qu'une hypothèse de travail pour des recherches ultérieures. Je pense qu'on serait plus près de la réalité en considérant le mucus comme la modification d'une phase du protoplasma épithélial. Il serait sécrété par toute la surface de l'épithélium.

b) Huitre très verte (Huitre ayant séjourné plusieurs mois dans les claires : « Huitres de claires. »)

A mesure que la pigmentation de l'Huitre augmente, le protoplasma épithélial des organes cités paraît, toujours dans sa partie distale seulement, de plus en plus pigmenté : teinte verte générale et granulations vertes de plus en plus nombreuses. Les « cellules de sécrétion » conservent indéfiniment leur coloration du début à tel point que bientôt elles ne paraissent pour ainsi dire plus colorées à côté du protoplasma (fig. 4 : B).

Chez l'Huitre très verte on reconnaît facilement que le protoplasma épithélial est le siège essentiel de la pigmentation.

Les granulations vertes du protoplasma épithélial (partie distale) sont disposées irrégulièrement, comme je l'ai dit plus haut, même chez la portugaise de claire fortement verte. J'ai eu l'occasion d'examiner des *Ostrea edulis*. Les granulations vertes du protoplasma épithélial d'abord irrégulièrement disposées, prennent une disposition géométrique chez les *Ostrea* de claire, très vertes, où le protoplasma en est fortement bourré. Elles se groupent en masses quadrangulaires ou polygones. C'est probablement le résultat de leur abondance

qui provoque une réaction physico-chimique spéciale au sein du protoplasma. Le phénomène est beaucoup plus net chez les autres Lamellibranches.

Chez l'Huitre portugaise, le pigment présente la même disposition dans les autres organes.

Dans les cellules hépatiques, on trouve des granulations vertes, mais ce sont les brunes qui prédominent. Le foie est brun-noirâtre chez les Huitres de claires, très vertes. On verra qu'il n'en est pas de même chez les autres Mollusques.

C'est uniquement chez les Huitres de claires très vertes que la face interne du bourrelet

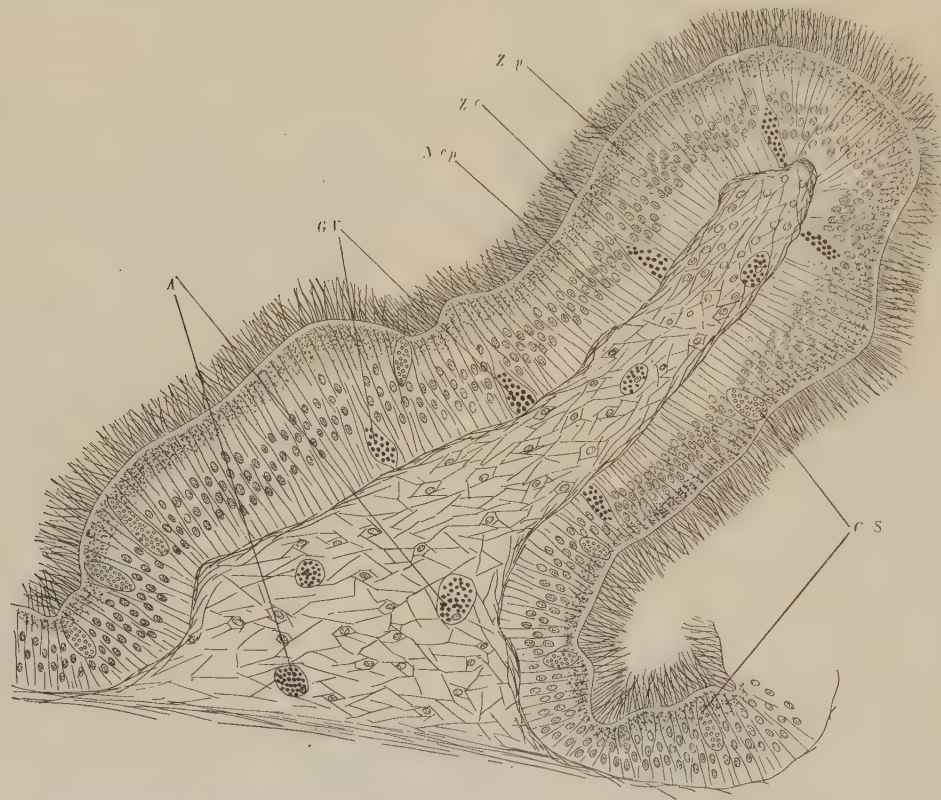


FIG. 6. — Coupe transversale dans l'un des plis de la face interne d'un palpe. — C. s., Cellules sécrétrices; N. ep., Noyaux de l'épithélium; Z. p., Zone pigmentée; Z. c., Zone claire; G. v., Granulations vertes; A., amœbocytes avec leurs granulations vertes.

du bord du manteau, ainsi que ses papilles, sont pigmentées. Cette particularité est plus marquée chez l'*Ostrea edulis*;

2° *Observations sur des coupes.* — J'ai examiné des coupes faites dans les branchies, les palpes et l'intestin d'Huitres portugaises de claires, très vertes, en suivant la méthode indiquée par CARAZZI. Mes observations ne font que confirmer celles de ce dernier auteur sur l'*Ostrea edulis*, bien que je n'admette pas certaines interprétations. Les figures qu'il donne sont très précises. J'en reproduis quelques-unes (fig. 5) en même temps qu'une de mes coupes dans les palpes d'une *Gryphaea* très verte (fig. 6).

Nous remarquons, dans l'épithélium des organes pigmentés, que toutes les cellules, en dehors des « cellules de sécrétion » en partant de leur bord distal ou externe, présentent

d'abord une zone parfaitement incolore puis, jusqu'à une distance plus ou moins grande du noyau, une zone pigmentée ayant une teinte verte générale avec de nombreuses granulations vertes. Cette dernière s'étend toujours très peu en profondeur. C'est à ce niveau que se produit le contact entre la substance verte absorbée et le protoplasma non différencié. Au delà de cette zone, vers l'intérieur, le pigment ne se présente plus qu'en granulations assez grosses et plus ou moins groupées. On trouve de ces groupes jusqu'à la base interne de l'épithélium. Puis, dans le tissu conjonctif sous-jacent et dans la lacune sanguine, ces grosses granulations vertes sont englobées dans des amœbocytes.

Les « cellules de sécrétion » ne sont jamais colorées, soit que leur faible coloration naturelle ne paraisse pas, comme c'est le cas pour le protoplasma faiblement pigmenté, soit que le pigment qu'elles ont fixé se soit dissout dans les réactifs, car sa liaison avec leurs granulations ne doit pas être la même qu'avec le protoplasma.

Ainsi, le pigment qui pénètre directement dans le protoplasma de l'épithélium traverse celui-ci et le quitte englobé dans des amœbocytes qui le conduisent dans le sang.

On ne peut plus, dans l'état actuel de la biologie, rester à cette notion que les amœbocytes du sang traversent l'épithélium et viennent y prendre le pigment pour retourner ainsi chargés dans le sang. Ce mécanisme simple, pour l'esprit surtout, serait bien difficile à expliquer physico-chimiquement.

C'est tout le mécanisme du travail protoplasmique qui est en jeu. On comprend qu'il est nécessaire d'examiner bien des faits avant de se hasarder à pénétrer sur ce terrain. J'y reviendrai.

Retenons seulement de ce qui vient d'être dit, les formes sous lesquelles se présente le pigment dans le protoplasma des épithéliums pigmentés et retenons aussi qu'il pénètre directement dans certains épithéliums de la surface extérieure du corps de l'Huitre, d'où il passe dans le sang.

Il est facile de se rendre compte, sur le vivant, que le pigment passe dans le sang. Enlevons la valve supérieure d'une Huitre très verte, puis le manteau, de façon à faire apparaître le vaisseau afférent de la branchie qui se rend à l'oreillette. Sous le binoculaire, en lumière directe, perçons ce vaisseau avec une pointe sèche très fine. On voit le sang s'écouler. Il est parfaitement vert. Si on l'examine entre lame et lamelle au fort grossissement du microscope ordinaire on voit de nombreux amœbocytes bourrés de granulations vertes.

Que devient le pigment une fois dans le sang? Il y subit des transformations certaines car les granulations vertes deviennent, dans les amœbocytes, de plus en plus jaunâtres, puis brunes. CARAZZI a bien montré qu'elles étaient transportées par les amœbocytes dans le foie.

J'ai déjà fait remarquer que ce sont surtout des granulations jaunes et brunes qu'on trouve dans le foie ; la plupart de ces dernières ne sont d'ailleurs que la modification des granulations vertes.

Le fait qu'on en trouve très peu de vertes, contrairement à ce qui se passe chez d'autres Lamellibranches que j'étudierai plus loin, indique que le foie est avant tout, chez l'Huitre, un organe d'excrétion. Cela ne l'empêche pas, je crois, d'être, à un certain degré, un organe d'absorption. On a rapporté des faits dans les deux sens. Dans un travail récent, C.-M. YONGE reprend la question. Je n'insisterai donc pas.

E. FISCHER, dans une Note où il étudie l'origine des pigments du crabe, dit : « En outre, il semble bien que l'épithélium de l'hépatopancréas soit effectivement capable d'absorber ou d'excréter indifféremment certaines substances. » Ce serait donc un fait assez général.

Si le pigment est excrété par le foie il l'est aussi, sans aucun doute, par la glande des oreillettes qui présente les mêmes granulations vert-jaune, puis brunes.

Et, puisque je parle de l'excrétion du pigment, je vais en profiter pour relater quelques expériences que j'ai faites à ce sujet.

1° *Un pigment brun est excrété.* — Je dirai plus loin ce qui a été exactement absorbé et ce qui est excrété.

Plaçons une Huitre de claire très verte avec une Huitre blanche dans un cristalliseur assez grand. Aérons l'eau tous les jours et changeons-la au bout de quelques jours. Quinze jours après, l'Huitre blanche comparée avec une Huitre témoin placée dans un autre cristalliseur présente des branchies nettement plus brunes. Elle a absorbé, par ses branchies, le pigment brun excrété par l'Huitre verte. Ce phénomène est beaucoup plus net avec les colorants artificiels, comme on le verra.

2° *Durée de la dépigmentation des Huitres vertes, dans la nature.* — C'est une question qui a été controversée. Les uns disaient quelques jours, les autres quelques mois ! Ici encore tous les auteurs avaient raison, mais ils se plaçaient dans des conditions différentes.

A défaut d'autres arguments on a beaucoup fait valoir celui-là dans la discussion sur l'origine de la pigmentation. En réalité il n'a pas l'importance qu'on lui a attachée.

Voici le résultat de mes expériences :

Je mets, le 28 décembre 1924, des Huitres blanches dans une claire verte ; cinq jours après elles sont très légèrement vertes. Je place alors ces Huitres dans un « dégorgeoir » sans Navicules le 5 janvier 1925. Le 15 janvier, j'en ouvre quelques-unes ; elles sont légèrement déverdies. Le 25 janvier elles le sont complètement. Il leur a fallu vingt jours pour perdre tout leur pigment.

Le 8 avril 1925, je mets des Huitres de claires bien vertes dans des viviers en pleine mer, sur les fonds desquels ne se développent jamais de Navicules. Je les ouvre, le 5 août 1925. Elles sont presque complètement déverdies. Il faut compter encore quinze jours pour avoir un déverdissement complet. J'ai remarqué que les palpes se dépigmentent les premiers, puis les branchies, l'intestin reste longtemps vert après ces organes.

Il faut par conséquent de quatre à cinq mois à une Huitre de claire très verte pour se dépigmenter à peu près complètement.

f) Le pigment vert dans les tissus des autres Invertébrés

Je vais étudier maintenant la pigmentation chez quelques-uns des Invertébrés signalés plus haut. Je commencerai par les Lamellibranches.

Chez *Cardium edule*, les branchies, les palpes, l'œsophago-pharynx et l'intestin sont verts et le pigment se présente, dans ces organes, exactement comme dans les organes correspondants de l'Huitre.

Le foie est ici bourré de granulations vertes. Son ensemble apparaît non plus brun, comme chez l'Huitre, mais très vert. Il y a bien de nombreuses granulations jaunes ou brunes, mais elles ne prédominent pas. On peut en conclure que le foie a ici avant tout un rôle d'absorption.

Chez *Tapes decussatus*, les palpes et les branchies sont toujours moins vertes, et, fait intéressant à signaler, c'est toujours la partie médiane du feuillet branchial qui se pigmente plus particulièrement.

La paroi externe des siphons est très verte, le foie également et, comme pour *Cardium edule*, il doit jouer surtout un rôle d'absorption.

Chez *Venus mercenaria*, le foie est aussi brun que vert. Les branchies, les palpes, l'œso-phago-pharynx et l'intestin sont très verts de même que les siphons, la face interne et le bord du manteau. Chez les *Venus* peu colorées le pigment apparaît comme chez l'Huître : teinte verte générale et granulations vertes irrégulièrement disposées dans le protoplasma distal des épithéliums. Mais, dès que la pigmentation est assez forte, les granulations se groupent et se disposent en figures géométriques, ainsi qu'on peut le voir sur la figure ci-contre qui représente un bourrelet de la face interne du manteau examiné sur le frais (fig. 7).

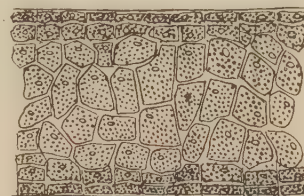


FIG. 7.

Portion d'un bourrelet du manteau très vert de *Venus mercenaria* (vue sur le frais).

Dans les autres organes l'aspect est le même. Si nous comparons cette disposition avec celle des granulations chez la *Venus* peu colorée, nous assistons, sous le microscope, à une fragmentation du protoplasma épithélial par suite des modifications physico-chimiques qu'apporte l'abondance de matières étrangères à son contact, d'où résulte le nouveau groupement des granulations.

Chez *Patella*, dans la sole pédieuse comme dans les branchies, le pigment se présente sous forme de granulations vertes. Je représente ici un fragment de lamelle branchiale, avec ses bourrelets, examiné sur le frais (fig. 8).

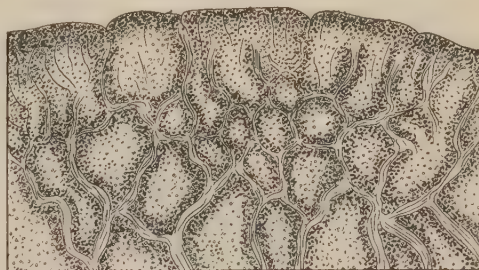


FIG. 8.

Fragment d'une lamelle branchiale verte de *Patella* (vue sur le frais).

Chez le Turbellarié polyclade que j'ai eu l'occasion de pigmenter expérimentalement, le pigment se présentait sous forme de granulations vertes nombreuses disposées irrégulièrement dans tout l'épithélium externe, ainsi que le montre la portion dorsale figurée ci-dessous, de l'animal vu sur le frais entre lame et lamelle (fig. 9-A). Dans le même animal, l'intestin présentait les particularités suivantes. Les cellules de l'épithélium intestinal étaient bourrées de gouttelettes huileuses de toutes dimensions dont la coloration ne laissait aucun doute sur leur origine. Je figure deux de ces cellules examinées sur l'animal vivant (fig. 9-B). Ici nous assistons, sur l'animal vivant même, à l'absorption

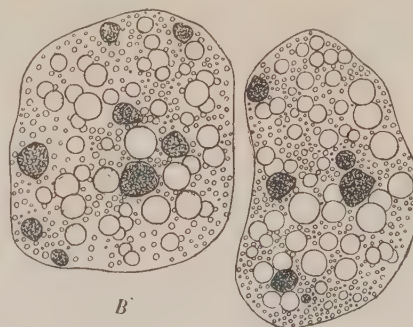


FIG. 9. — A Portion dorsale d'un Turbellarié polyclade verdi expérimentalement (vue sur l'animal vivant); Rh., Rhabdites; C. g., Cellules glandulaires; B Deux cellules de l'épithélium intestinal du même animal avec leurs gouttelettes huileuses de toutes dimensions (laissées en blanc).

intestinale du pigment en même temps qu'à son absorption directe par l'épithélium externe.

Les Annélides recueillies sur des coquilles d'Huîtres venant du Bassin d'Arcachon et que

je n'ai pas déterminées, présentèrent le même aspect, après leur verdissement obtenu expérimentalement, que les *Nereis diversicolor* pris dans la vase du fond des claires vertes. Tout l'épithélium superficiel du corps et des parapodes est bourré de granulations vertes disposées irrégulièrement.

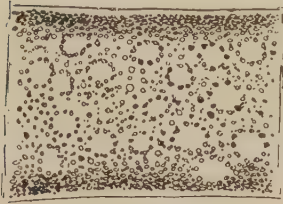


FIG. 10.
Segment d'une annélide
verte (vu sur le frais).

Je représente ici (fig. 10) un segment examiné sur l'animal vivant. L'intestin présente des gouttelettes huileuses de dimensions variées et plus ou moins colorées.

Les Copépodes vont nous retenir un peu plus longuement.

J'ai observé divers genres de Copépodes, mais plus particulièrement des *Canthocamptus* ou *Mesochra*.

1° *Canthocamptus* des fonds couverts de Navicules, ou de mes cultures de cette Diatomée.

Examinons-les vivants, entre lame et lamelle, lorsque l'intestin n'est pas trop plein de matières pigmentées ; on y voit de nombreuses gouttelettes huileuses de grosseurs variées et colorées diversement. Au grossissement ordinaire le Copé-

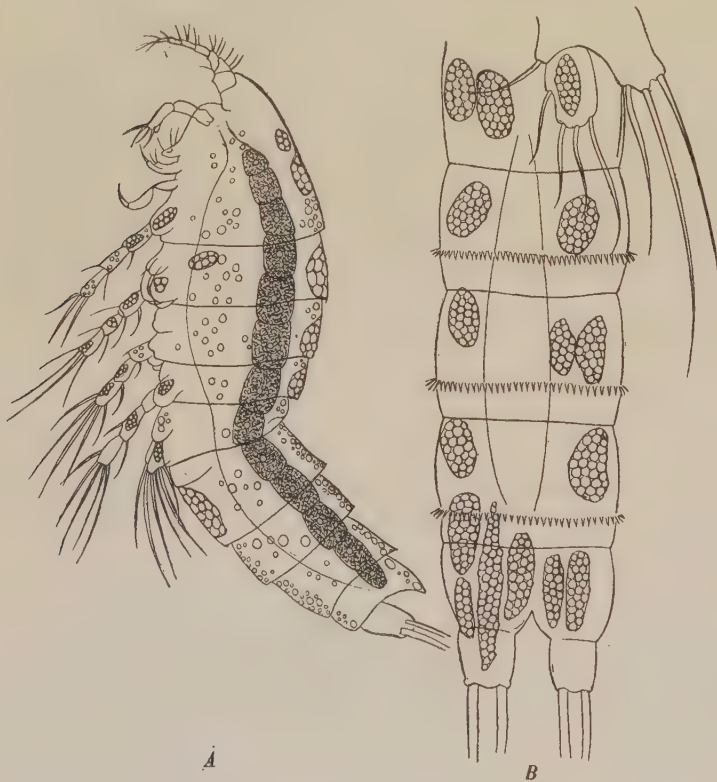


FIG. 11. — A Copépode vivant sur un fond de Navicules bleues. Ses œufs sont colorés en vert d'une façon homogène. Dans l'hypoderme et dans les pattes on remarque les gouttelettes huileuses pigmentées plus ou moins groupées (vu sur l'animal vivant) ; B Copépode vivant sur un fond constitué par un grand nombre de Navicules mortes. On remarque les groupes de gouttelettes huileuses qui sont dans l'hypoderme et dans les pattes.

pode a une teinte verte générale caractéristique due à une coloration de toute la carapace chitineuse. Au fort grossissement (fig. 11) on observe un nombre plus ou moins grand, suivant les individus, de gouttelettes huileuses, colorées ou non, juste sous la carapace, dans l'hypoderme. Et ceci dans tous les segments ; mais le plus souvent dans les segments abdominaux. Ces gouttelettes huileuses de dimensions variées sont, soit disséminées irrégulièrement, soit groupées. Dans ces groupes on voit parfois les contours des gouttelettes s'effacer et elles fusionnent pour ne former qu'une grosse gouttelette. A l'intérieur du corps, ainsi qu'à l'intérieur des pattes, on en trouve qui sont isolées ou groupées (fig. 11-A).

Ce qui attire aussi particulièrement l'attention ce sont les œufs qui, tant à l'intérieur du corps qu'à l'extérieur, sont d'un bleu-vert caractéristique

qui indique bien que le pigment de la Navicule est passé à l'intérieur.

Je n'ai pas de preuve expérimentale à donner, mais la disposition des gouttelettes hui-

leuses suffit pour permettre de dire que nous assistons, ici encore, en même temps qu'à une absorption intestinale, à une pénétration directe du pigment par toute la surface extérieure du corps. De plus, nous sommes en présence des gouttelettes huileuses pigmentées tandis que jusqu'ici nous n'avions que des granulations vertes dans les épithéliums externes. Ceci nous laisse supposer que, au contact du protoplasma des épithéliums envisagés, la matière organique pigmentée subit une première transformation et se présente, par suite, sous une autre forme. L'hypoderme, de constitution différente, n'agirait pas de la même façon sur cette matière organique.

Voyons maintenant ce que deviennent les œufs ainsi colorés, au cours de leur développement. Il suffit d'examiner un certain nombre de Copépodes de la même culture pour s'en rendre compte. Quelquefois, sur le même individu, on trouve des œufs à divers stades. Je représente ici (fig. 12) une partie d'un sac ovigère dans cet état. Dans l'embryon, où l'œil est formé et coloré en rouge, on voit de nombreuses granulations vertes, jaunes et brunes d'abord disséminées ; par la suite ces dernières se groupent en une masse brune. Ces granulations n'ont plus rien de commun avec les gouttelettes huileuses primitives. Ce n'est que l'un des éléments de la matière organique pigmentée, provenant des Diatomées, qui a été absorbée. Une partie a été assimilée, l'autre est rejetée ;



FIG. 12. — Portion du sac ovigère d'un Copépode vivant sur un fond où abondent les Navicules bleues (vue sur le vivant). On remarque trois œufs verts dont la coloration est homogène, puis cinq embryons avec leurs yeux et les granulations pigmentées, produit d'excrétion.

2° *Canthocamptus* développés en cristalliseur sur un fond constitué par de la boue de Navicules mortes, décolorée par suite de son long séjour à la lumière.

L'hypoderme et les appendices sont bourrés de gouttelettes huileuses groupées et plus ou moins fondues ensemble. Elles ne sont pas colorées et ne donnent aucune couleur spéciale au Copépode (fig. 11-B) ;

3° *Canthocamptus* développés dans une culture très active de *Pleurosigma*.

Bien que je sorte ici du cadre du chapitre intitulé : « Le pigment vert », je n'hésite pas à rapporter cette observation qui complète fort bien celles du paragraphe (1°) ci-dessus et fait ressortir leur importance.

J'ai dit, en b, que j'avais obtenu une culture très active de *Pleurosigma* qui présentaient un grand développement et une forte coloration brune de leurs endochrômes et qui, d'autre part, étaient bourrées de gouttelettes huileuses brunes ou incolores. Dans cette culture, les Copépodes se sont développés. L'examen au microscope, entre lame et lamelle, de *Canthocamptus* vivants montre qu'ils sont bourrés de gouttelettes huileuses de la même façon que les précédents (fig. 11). Mais ici la couleur générale est brune : les gouttelettes sont brunes ou incolores. Les œufs, à l'intérieur comme à l'extérieur du corps sont bruns sans granulations spéciales. Dans l'embryon, des granulations

bistres, puis roses, apparaissent qui finissent par se grouper en une masse. Pour compléter ces observations je vais citer quelques passages d'une Note de LWOFF sur l'origine et l'évolution du pigment oculaire des Copépodes. Voici ce qu'il dit : « Lorsque le *Nauplius* sort de l'œuf, il n'a absorbé aucune nourriture ; son œil est cependant coloré en rouge. Le carotinoïde existe dans les cocytes sous forme de combinaison avec un protide, combinaison du type de celle étudiée par VERNE chez les Crustacés décapodes (carotine-albumine dans ce cas).

Les ovaires d'*Idya* paraissent incolores *in vivo*. Mais si on les plonge dans le sublimé les ovaires virent immédiatement au rose, virage dû à la séparation du carotinoïde de son complexe protide et à sa précipitation, précipitation qui a lieu sous l'influence de tous les agents coagulants ou décomposant les protides : chaleur, sels de métaux lourds, etc...

L'évolution des réserves du carotinoïde-protide aboutit à des sphérules de carotinoïde-protide réunies en deux ou trois grosses masses très sidérophiles, incolores sur le vivant mais virant au rose sous l'influence du sublimé. A ce stade, de petites gouttelettes lipidiques apparaissent près des masses de réserve, gouttelettes tenant le pigment carotinoïde en solution. C'est alors que l'œil nauplien commence à se pigmenter. (Nous n'avons pas vu le mode de transport de la carotène jusqu'à l'œil.) L'estomac du *Nauplius* se forme ensuite autour des réserves qui virent alors au rose sous l'influence de la digestion tryptique ; une partie au moins des produits de digestion est absorbée par les cellules stomacales. Conclusion : L'œil d'*Idya furcata* renferme un pigment carotinoïde. Ce pigment est accumulé dans les cocytes sous forme de carotène-protide. La carotène libérée de son complexe au cours du développement, par suite probablement de la digestion de la masse de réserve carotinoïde-protide, se fixe dans l'œil nauplien avant la différenciation de l'intestin embryonnaire. »

On comprend comment ces observations et les miennes se complètent. Les pigments des Copépodes nous apparaissent, sans aucun doute possible, comme étant d'origine végétale et plus particulièrement provenant des Diatomées. La matière organique pigmentée fabriquée par celles-ci est absorbée tant par la voie intestinale que par toute la surface extérieure du corps. Nous assistons, ce qui est le plus important, à l'utilisation de cette matière organique. Elle est mise en charge dans les cocytes et utilisée en partie au cours du développement de l'œuf. Les déchets se présentent dans l'embryon sous forme de granulations pigmentées. La rapidité avec laquelle la substance huileuse pigmentée arrive à l'œuf pourrait nous faire supposer qu'il s'agit d'une matière albuminoïde, ce qui n'est pas impossible. Cependant, ainsi que nous le verrons plus loin, presque toutes les substances qui pénètrent dans le corps de l'animal entrent immédiatement en combinaison avec les albuminoïdes du corps. Et ce sont, en définitive, toujours les composés albuminoïdes qui arrivent dans l'œuf. Dans tous les œufs la carotène est alors sous forme de carotène-albumine. Cela ne nous apprend rien sur la forme sous laquelle le pigment a été introduit dans l'organisme.

Il me reste à parler du *Carcinus maenas*.

J'ai remarqué tout d'abord que les branchies des Crabes, depuis peu de temps sur un fond couvert de Navicules, se coloraient en vert. J'ai provoqué cette pigmentation ensuite en transportant des *Carcinus* et aussi des *Cancer pagurus* de fonds ordinaires dans des bassins verts, et j'ai constaté le verdissement des branchies chez les deux genres. Je l'ai provoqué également en plaçant des Crabes dans un cristalliseur avec de l'eau contenant du pigment en solution. Les branchies étaient vertes dix-huit heures après. Or, on sait que les branchies

sont chitineuses et qu'elles muent avec toute la carapace. J'ai trouvé des carapaces vides de Crabes venant de muer, dont les branchies étaient encore vertes. Ceci peut s'expliquer par le fait que, de la matière organique pigmentée qui pénètre directement par la branchie, la matière organique seule passe dans le sang, tandis qu'une partie du pigment reste fixée à la branchie.

Quoi qu'il en soit, nous sommes ici encore en présence d'une pénétration directe de la substance huileuse pigmentée dans la branchie.

En ce qui concerne la carapace, la question est plus délicate. Depuis les belles expériences de M. ABELOOS et ED. FISCHER qui ont étudié, en biologistes, un certain nombre de faits sur les pigments, on tend à considérer les pigments de la carapace des crustacés comme étant d'origine externe. Ces deux auteurs disent dans une Note : « En résumé, il résulte de l'ensemble de nos expériences que le pigment carotinoïde de la carapace peut provenir, au moins en partie, de l'alimentation par l'intermédiaire du foie et du sang. »

Examinons des Crabes ayant vécu plusieurs mois sur le fond couvert de *Navicules* bleues d'une claire. Toute la partie inférieure de la carapace et les pattes, plus particulièrement à leurs extrémités, sont vert-glaucue. En grattant avec une pointe sèche on voit qu'il s'agit uniquement d'une très légère pellicule de pigment adhérente à cette partie de la carapace. Cependant, après l'avoir bien nettoyée, chez certains Crabes, elle garde une coloration bleue que l'on ne retrouve pas chez ceux des vases environnantes sans *Navicules*.

D'autre part, j'ai comparé des *Carcinus maenas* pris dans les vases entre l'île d'Oléron et le continent avec d'autres pris au milieu des *Ulva lactuca* sur les rochers calcaires de la côte de l'Océan et enfin avec ceux pris sur le « Rocher d'Ade », entre l'île et le continent. Il est nécessaire que je dise quelques mots de ce dernier. Ce Rocher est couvert d'algues brunes, de *Fucus* en particulier. Il a une partie haute, côtière, et une partie basse qui ne se découvre qu'aux grandes marées. En certains endroits, il y a d'immenses excavations où l'eau reste quand la mer se retire et où les conditions des fonds plus bas sont réalisées. Il est fort probable que la faune de ce Rocher y vit à demeure même pour les animaux qui émigrent en temps ordinaire.

Depuis quelques années les Ostréiculteurs déposent des Huitres dans les zones les plus favorables. De l'argile s'y est trouvée précipitée. Le *Navicula Ostrearia* s'y développe maintenant un peu partout et presque toute l'année.

Les Crabes qui ont vécu une grande partie de l'année sur ces fonds verts présentent une pigmentation particulière qui diffère de celle des Crabes pris ailleurs. Leur carapace est d'un bleu-vert qui indique bien la présence du pigment de *Navicules*. Après les faits constatés chez les Copépodes et dans les branchies même des Crabes on peut se demander si les pigments de leur hypoderme, d'où dérivent les pigments de la carapace, ne résulteraient pas d'une pénétration directe, au moment de la mue. La voie alimentaire ordinaire peut tout aussi bien être envisagée. La question est à résoudre expérimentalement.

Sur les Crabes, en dehors de l'absorption directe du pigment de *Navicula ostrearia* par les branchies, je n'ai fait que de simples observations et comparaisons qui m'ont conduit à des hypothèses et rien de plus. Des vérifications expérimentales sont indispensables. Il faut avouer que de très grandes difficultés se présentent à leur sujet.

De l'ensemble de ces faits, il ressort que nous sommes en présence de l'absorption d'une matière organique pigmentée, produit de l'activité particulière du *Navicula Ostrearia*, par de nombreux Invertébrés marins. Cette absorption a lieu par la voie intestinale, mais aussi par la surface extérieure du corps : soit par toute la surface, soit seulement par certains épithé-

liums, en particulier par ceux qui participent à l'absorption de l'oxygène. Nous avons assisté, chez certains, au passage de cette matière organique dans le sang et, d'une façon certaine, à son utilisation partielle, avec rejet d'un déchet, chez les Copépodes. Il est difficile d'assister à l'utilisation de cette matière organique chez les autres Invertébrés.

Ces faits ont une très grande importance parce qu'ils se passent dans la nature même aussi bien qu'au laboratoire et qu'il ne s'agit pas d'une matière organique quelconque.

Mais avant d'insister sur leur importance et d'en tirer les conséquences pour la biologie, il est nécessaire d'en étudier un certain nombre d'autres qui les complètent.

CHAPITRE II



Autres substances absorbées de la même façon par les Huitres

a) Absorption du fer

J'avais l'intention de n'étudier d'abord que l'absorption de substances organiques. Mais celle du fer joue un si grand rôle, à divers points de vue, dans la nature, et le verdissement des Huitres ayant été souvent rapporté à l'action du fer, il est indispensable que j'aborde la question pour la mettre au point.

CARAZZI, dès 1897, a parfaitement montré l'absorption du fer par les Huitres (*Ostrea edulis*). Il conclut à une absorption directe par les branchies. Si l'idée était nouvelle et extrêmement intéressante, il faut bien dire que ce n'était qu'une hypothèse tirée de l'examen statique de l'état sous lequel se présentait la substance étrangère dans l'épithélium des branchies. Ses expériences n'étaient pas complètes. Elles montraient bien la réalité de l'absorption du fer, mais elles n'étaient pas démonstratives en ce qui concerne la marche de cette absorption. Son travail mérite de nous retenir quelques instants. Il prépare une solution de sulfate de fer ($\text{SO}^4\text{Fe} + 7\text{H}^2\text{O}$) dans l'eau distillée à 10 pour 100 et ajoute une goutte de HCl concentré pour 100 grammes de la solution. Dans un cristalliseur, à trois litres d'eau de mer il ajoute 20 grammes de la solution ci-dessus et 100 grammes d'eau douce. Puis, sur le fond où il a mis des morceaux de tuile, il place 5 Huitres blanches (3 d'Arcachon et 2 de la Spezzia). Il se forme un précipité rouge abondant de sulfate basique de fer qui se dépose et les morceaux de tuile ont été placés sur le fond de façon à ce que le dépôt ne soit pas en contact avec les tissus des Huitres. Il change la solution de temps à autre.

Deux mois après environ il les retire. Il remarque, sur l'une d'elles, que le foie est couleur terre de Sienne et, d'autre part, que le mucus à l'extérieur des tissus retient de nombreuses particules de fer, même chez les Huitres placées ensuite pendant deux jours dans de l'eau de mer pure. Il laisse deux de ces Huitres pendant quatre mois dans la mer à deux mètres de profondeur. Au bout de ce temps, il ne reste plus de particules de fer à la surface du corps. Le foie est toujours jaune clair. Il les fixe et fait des observations sur des coupes. Il a mis le fer en évidence dans les tissus examinés par la réaction du bleu de Prusse. Il traite les coupes par FeCy^6K^4 puis HCl. Malgré la difficulté de réussir une telle réaction il a obtenu des résultats positifs.

Voici sa conclusion : « Les Huitres maintenues pendant quelque temps dans l'eau de mer à laquelle on ajoute une solution ferrugineuse, absorbent le métal à l'état de simple sel inorganique. L'absorption a lieu dans l'épithélium branchial aussi bien que dans les palpes et en-

grande abondance dans la muqueuse du tube digestif, de la bouche jusqu'à l'estomac. » Les « cellules de sécrétion » ne sont jamais colorées.

D'après lui, les amœbocytes du sang prennent ce fer dans les épithéliums et le transportent par le sang dans les lobules hépatiques et dans les lobules génitaux, où il est utilisé comme matériel du deutoplasma ovarien.

J'ai refait, à peu de chose près, les mêmes expériences que CARAZZI en élevant des Huitres blanches dans des solutions de sulfate de fer. J'ai obtenu des résultats analogues. Au bout de quelques jours on peut déjà constater l'absorption par les branchies qui sont rose-jaune.

Mais CARAZZI n'a pas donné la preuve directe, expérimentale, de l'absorption par l'épithélium des tissus colorés. Il n'a fait que poser l'hypothèse d'un tel phénomène.

En extirpant l'estomac, comme je l'ai fait pour le verdissement des Huitres, j'ai obtenu, trois jours après la mise en expérience, une Huitre dont les branchies étaient déjà faiblement, mais d'une façon certaine, rose-jaune.

D'autre part, la distribution du fer dans le protoplasma épithélial est la même que pour la substance verte. Cela indique seulement que le mécanisme de l'absorption est le même. Nous verrons d'ailleurs des substances les plus variées présenter la même répartition.

Dans le protoplasma distal, on remarque une zone claire probablement de protoplasma différencié, puis une zone jaune qui n'atteint pas les noyaux. Elle se présente avec une teinte jaune générale et des granulations jaunes. Le sel de fer est ici au contact du protoplasma non différencié. Au niveau des noyaux et surtout au-dessous, on ne voit plus que des granulations jaunes plus grosses et plus ou moins groupées. Enfin, dans le tissu conjonctif sous-jacent ou dans les lacunes, ces granulations sont dans des amœbocytes. Comme pour le pigment vert, on ne peut plus se contenter de l'hypothèse émise à ce sujet, à savoir que les amœbocytes du sang viennent dans l'épithélium prendre les matières et retournent ensuite dans le sang ainsi chargés. C'est dans la seconde partie de ce travail seulement que j'étudierai la question.

Dans son mémoire de 1896, CARAZZI pressentait déjà la réalité de l'absorption du fer par les Huitres et y rattachait la coloration de certaines, en particulier celles de la Spezzia. « Si les Huitres de provenances diverses (telles que la Spezzia) sont maintenues sur un fond contenant de l'argile ocracée, elles présentent une pigmentation (jaune-brun, etc.) analogue à la marennine par son mode de formation, sa distribution et par ses réactions sous l'influence des agents histologiques (fixateurs, durcisseurs, colorants). »

CARAZZI a généralisé trop vite. Il a voulu voir pour toutes les Huitres pigmentées l'action du fer. Certes, ses expériences et ses observations lui permettaient d'aller loin dans ce domaine, comme on va le voir. Mais le verdissement des Huitres de Marennes n'entraîne pas dans ce cas. Il a trop systématiquement repoussé l'étude des Navicules. S'il en avait eu à sa disposition, sans aucun doute, il aurait constaté leur intervention. Et du même coup il expliquait le mécanisme du phénomène, car bien que ce soit encore à l'état d'hypothèse, n'ayant pas apporté de preuve directe, il a raison lorsqu'il dit : « Le phénomène du verdissement est dû à une véritable fonction d'assimilation du protoplasma de la partie apicale des cellules cylindriques épithéliales de toutes les muqueuses, tant externes qu'internes, excepté celles de l'estomac et de la région occupée par la tige cristalline. » Mais, dans le cas du verdissement, c'est le pigment de la Navicule qui est pris au milieu extérieur et, dans d'autres cas, ce sont des sels de fer.

On sait que les argiles contiennent toutes, mais à divers degrés, des sels de fer à divers états. Ils leur donnent des couleurs caractéristiques. Elles sont colorées en rouge par l'oxyde de fer, en brun ou jaune par l'hydroxyde de fer (limonite $\text{Fe}^2\text{O}^3, 3\text{H}^2\text{O}$). Quand la teneur en

hydroxyde de fer augmente, l'argile jaune passe à l'ocre jaune. Des argiles renferment un mélange d'oxyde de fer rouge et d'hydroxyde ce qui peut donner des couleurs variées.

Enfin certaines argiles sont bleues, quelquefois bleu-gris, d'autres fois franchement bleu-vert. Cette teinte est due à la matière organique et au sulfure de fer finement réparti. La vase noire des côtes doit sa couleur à un grand développement des bactéries sulfureuses en l'absence d'O. Cette couleur disparaît dès que cesse leur activité par suite d'une oxygénation normale.

Ces argiles vont donner leur couleur aux Huitres qu'on y dépose par suite de l'absorption directe des sels de fer suivant le mécanisme que nous avons étudié expérimentalement.

1° *Huitres brunes*. — CARAZZI signale les Huitres brunes de la Spezzia élevées sur les fonds d'argile ocracée. Je n'ai pas eu l'occasion de trouver des Huitres à branchies brunes, mais j'ai reçu de Brest des Praires (*Venus verrucosa*) et, de La Tremblade, des Clams (*Venus mercenaria*) dont les branchies et le manteau, surtout sur le bord, étaient brun foncé. La couleur de la coquille elle-même et de l'argile qui restait fixée ne laissait aucun doute sur la nature du sel de fer présent dans cette argile. L'épithélium des organes pigmentés était bourré de granulations brunes, de même que les amœbocytes des lacunes. En traitant un lambeau du bord du manteau par l'acide azotique puis par le ferrocyanure de K, je n'obtenais rien à froid, mais en faisant bouillir légèrement, la réaction du bleu de Prusse apparaissait exactement à la place de la coloration brune et pas à côté. La réaction est nette et ne laisse place à aucun doute ;

2° *Huitres « côte rouge »* (*Ostrea edulis*). — Cette Huître m'a été signalée par les Ostréiculteurs. Elle n'a pas été étudiée d'une façon spéciale. J. CHATIN en parle vaguement en 1896. En 1904, dans un petit journal *Le Réveil salicole, ostréicole et des pêches maritimes*, au sujet de l'état de l'Ostréiculture en France, je trouve : « ... I^{er} Jury, poursuit le Rapporteur, a vu apparaître, en 1900, une marque nouvelle de qualité supérieure, l'Huître que l'on sert dans les restaurants élégants sous le nom d'Huître « Côte rouge ». La « Côte rouge » paraît avoir été introduite dans le commerce vers 1890... C'est une Huître sauvage, une Huître de drague, primitivement originaire de la rivière de Pénérf, soigneusement choisie parmi les plus régulières et parquée pendant un certain temps. Mais toutes les Huitres draguées paraissent susceptible de former de la Côte rouge. »

Voici exactement de quoi il s'agit : Un Ostréiculteur avait établi un parc à engraissement, une claire, dans l'un des havres de la rivière de Pénérf, au niveau des « Côtes-Rouges », nom donné au pays par les habitants, par suite de la couleur de la falaise formée de terres jaune rougeâtre. Il s'est aperçu que les branchies des Huitres prenaient une teinte jaune-rose qui les distinguait de celles des autres endroits et leur donna le nom du pays : Huitres des « Côtes-Rouges » ou Huitres « Côtes rouges ».

Je me suis fait adresser quelques-unes de ces Huitres (car, à l'heure actuelle encore, celles qui sont élevées à cet endroit, quand elles ne verdissent pas, prennent la teinte jaune-rose) ainsi qu'un échantillon de fond. Ces terres rouges résultent de la décomposition de roches granitiques ; on y retrouve encore du quartz, du feldspath en décomposition et du mica plus ou moins transformé. Nous assistons là à la formation même de l'argile. Or, cette terre est chargée d'hydroxyde de fer jaune avec un peu d'oxyde de fer rouge, ce qui lui donne une couleur jaune-rougeâtre.

En ce qui concerne les Huitres, les branchies, les palpes, le bord du manteau, ainsi que tout l'intestin depuis l'estomac jusqu'à l'anus sont jaune-rose.

L'examen, sur le vivant, d'un lambeau de branchie montre une coloration diffuse du protoplasma épithélial. Entre lame et lamelle j'ai fait la réaction du bleu de Prusse : No^3H

puis ferrocyanure de K. A froid, rien ; à chaud, la réaction a lieu, mais à l'extérieur du lambeau d'où le fer est sorti et jamais dans le protoplasma, comme je l'ai obtenu sur des clams et praires bruns. Cela dépend de la liaison du sel de fer avec le protoplasma. Quoi qu'il en soit, qu'il y ait liaison chimique ou non avec le protoplasma épithélial, c'est bien le sel de fer absorbé directement qui lui donne sa coloration ;

3° *Huitre bleue ou bleu-vert* (*Gryphæa angulata*). — L'existence de ces Huitres m'avait été signalée par des Ostréiculteurs avertis. J'ai eu l'occasion d'en observer. Voici dans quelles circonstances :

Depuis quelques années déjà on transforme les marais salants de l'Ile d'Oléron en claires à Huitres. A Boyardville, j'ai assisté à cette transformation il y a trois ans. Un des propriétaires, Ostréiculteur peu averti, a voulu me montrer que les Huitres qu'il y avait déposées étaient vertes. Je me suis facilement rendu compte que leur couleur bleu-vert n'avait rien de commun avec celle des véritables Huitres vertes et, examinant l'argile du fond, je me suis trouvé en présence d'une argile assez fortement bleue, chargée, par conséquent, de matière organique et de sulfure de fer. La couleur des Huitres était due, sans aucun doute, à l'absorption de ce sel de fer. D'ailleurs, dans les claires d'un autre Ostréiculteur du même endroit, claires confectionnées l'année précédente, les Navicules se développaient, et là, j'ai assisté à la double coloration des branchies des Huitres. Ces branchies, d'abord bleu-vert par suite de l'absorption de sulfure de fer absorbaient secondairement du pigment de Navicules et devenaient d'un vert glauque foncé différent de celui de l'Huitre ordinaire. Ici les deux teintes étaient superposées.

Toutes les argiles bleues sont susceptibles de donner des Huitres à branchies bleu-vert si le sel de fer à cet état y est assez stable. On sait qu'à l'air beaucoup de ces argiles bleues deviennent ocre par suite de l'oxydation du sel de fer.

Il se dégage de ces dernières observations une autre conséquence. Les branchies des Huitres « Côte rouge » sont jaune-rose, mais le tissu est parfaitement blanc, tandis que les Huitres de la région de Marennes, dites « blanches », ont tout de même une légère teinte grise ou gris-vert générale. Cette dernière coloration est donc due aux sels de fer des argiles des fonds de cette région.

Avec les branchies colorées en bleu-vert par le sulfure de fer de l'argile, nous sommes en présence des Huitres qui correspondent, à peu de chose près, à l'idée que CARAZZI se faisait du verdissement. Mais de l'idée à la réalité il y a loin.

C'est, sans aucun doute, de ce même phénomène que veut parler COSTE quand il dit : « De ces trois opinions, celle qui attribue à la nature du sol le pouvoir de verdir semblerait la plus conforme au véritable état des choses. C'est du moins ce que tendent à établir, d'une part, l'analyse comparative des terres prises dans les claires qui verdissent et dans celles qui n'ont pas cette propriété, et de l'autre, les expériences de la Commission de pisciculture de La Rochelle. Ces expériences prouvent que les marnes bleues verdâtres ont, comme le territoire de Marennes, et au même degré, la propriété de colorer les Huitres. »

Nous savons maintenant que, si les sels de fer sont susceptibles de donner, par leur absorption directe, des colorations variées aux branchies des Huitres, leur action n'a rien à voir dans le verdissement ordinaire qui est dû à l'absorption directe du pigment du *Navicula Ostrearia*.

Désormais, avant de tirer des conclusions, quelles qu'elles soient, d'analyses chimiques du fer dans le corps et surtout dans les branchies des Huitres, il faudra tenir compte du fait

biologique de l'absorption directe des sels de fer, pris dans les argiles du fond, par la surface extérieure du corps;

4^o *Huitres à branchies et manteau en partie noire* (*Gryphæa angulata*). — Avant de terminer l'étude de l'action du fer, je dois signaler une autre pigmentation des Huitres qui attire moins l'attention. Il s'agit de la coloration noire du bord du manteau et de la surface du péricarde. Quelquefois, mais rarement, la portion postérieure des branchies est également noire surtout au niveau de leur bord libre.

J'ai remarqué que cette pigmentation noire se trouve surtout chez les Huitres enfoncées dans la vase des viviers ou des claires et j'ai trouvé les branchies noires chez des Huitres de claires très profondément enfoncées qui ne paraissaient à la surface que par le bord postérieur seul de leurs valves. Or, on sait qu'à une faible profondeur au-dessous de la surface, la vase est noire par suite du développement extraordinaire des bactéries sulfureuses. Les sulfures y sont abondants.

Dans un filament branchial d'Huitre verte et noire à la fois, examinée sur le frais, on voit le pigment noir formé par des granulations qui s'entassent dans le protoplasma épithélial autour des « cellules sécrétrices » (fig. 13). Dans la paroi externe du péricarde, à côté des « cellules sécrétrices » on remarque des cellules bourrées de granulations noires (fig. 14). A la surface du bord libre du manteau, le pigment noir se présente souvent aussi dans des cellules particulières, quelquefois dispersé dans le protoplasma et enfin également, mais plus rarement, entre les granulations des « cellules sécrétrices ».

Plaçons un lambeau d'un de ces tissus entre lame et lamelle. Ajoutons-y de l'acide azotique, puis du ferrocyanure de K. A froid, il n'y a aucune réaction. Portons la lame au-dessus d'un bec Bunsen; chauffons très légèrement. Après ébullition, reportons la préparation sous le microscope. En exerçant une légère pression sur la lamelle on peut se rendre compte d'une façon très nette que la réaction a eu lieu dans le protoplasma exactement au niveau des régions noires. Nous sommes en présence d'un composé organique du fer. Que le composé ait été absorbé de l'extérieur ou qu'il se soit formé secondairement dans le protoplasma, la coloration noire est due au fer de l'argile du fond.

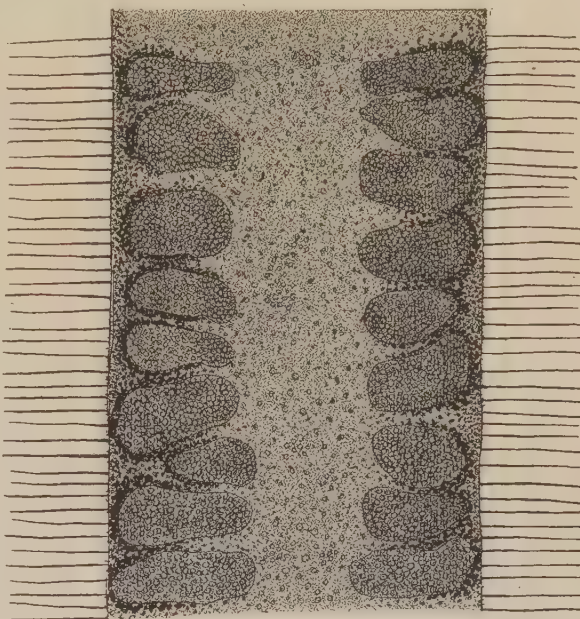


FIG. 13. — Fragment de filament branchial d'une branchie verte et noire (vu par la face supérieure, sur le frais).



FIG. 14. — Fragment de la paroi externe du péricarde d'une Huitre examiné sur le frais. On voit les « cellules sécrétrices » et les cellules à pigment noir.

b) Absorption du pigment de *Rytiphlæa*

En 1877, DESCOUTS signale que des Huitres du Bassin d'Arcachon se sont colorées anormalement en rouge violacé au niveau du manteau et des branchies. En même temps que les Huitres on lui a expédié des algues dans lesquelles se trouvait *Rytiphlæa tinctoria*. Cette algue, qui ne paraît pas colorer l'eau de mer ordinaire, colore en rose pourpre l'eau de mer diluée, dit-il, comme il a pu le constater.

Il pense que les spores de l'Algue, libérées, servent d'alimentation aux Huitres et que le pigment est conservé au niveau du manteau et des lamelles branchiales. Il n'appuie son hypothèse sur aucun fait. Nous dirons donc que, sans aucun doute, le pigment rouge de l'algue libéré dans l'eau de mer plus ou moins diluée a été absorbé directement par les branchies et le manteau des Huitres.

Un phénomène, exactement semblable, est rapporté par GIARD en 1905. Il dit : « A Cancale... parmi ces algues, il en est une, une Floridée, la *Rytiphlæa pinastroïdes* qui renferme une substance colorante rouge violacé d'une certaine puissance. Cette substance diffuse dans l'eau à l'entour des algues écrasées et à demi décomposées. Les Mollusques s'en imprègnent par une coloration *in vivo* et prennent en même temps l'odeur iodique de la Floridée.

« Cette coloration qui, dans son origine, n'est pas sans analogie avec la coloration verte des Huitres de Marennes, est loin de jouir de la même faveur auprès des consommateurs.

« En 1896, les pêcheurs de Cancale ont subi une perte considérable à la suite de ce qu'ils appelaient la maladie du crin rouge... Plusieurs Ostréiculteurs me consultèrent et m'envoyèrent des échantillons ; il me fut ainsi très facile de me renseigner sur les causes de la prétendue maladie et d'indiquer les remèdes à y apporter. Il suffit, en effet, de laisser reposer pendant quelques jours dans une eau pure les Huitres colorées par le *Rytiphlæa* pour les voir, en général, reprendre leur aspect normal et toutes leurs qualités comestibles. »

Pour GIARD, les Mollusques s'imprègnent du pigment par coloration *in vivo*. L'explication est évidemment très vague, mais elle est tout de même plus proche de la réalité. Il s'agit, là encore, très probablement, d'une absorption directe du pigment par la surface extérieure du corps.

Nous pouvons comparer ce phénomène avec celui du verdissement des Huitres, mais seul le mécanisme de l'absorption nous apparaît momentanément commun aux deux. Nous ne pouvons rien dire quant à la forme sous laquelle se présente ici le pigment, tant à l'extérieur que dans le protoplasma épithélial.

c) Absorption de matière organique résultant de la décomposition de végétaux

On sait que l'eau de mer n'arrive pas, dans les marais salants, directement où se dépose le sel, mais qu'on lui fait suivre un long trajet au cours duquel elle se décante et se concentre aussi quelque peu. L'eau de la mer entre d'abord dans des réservoirs qu'on appelle « jâs », à l'Ile d'Oléron. Dans beaucoup de ceux-ci, l'eau est saumâtre en hiver par suite des pluies. Il s'y développe une plante aquatique le *Ruppia maritima*. Elle forme parfois un tapis extrêmement épais sur le fond. Elle se développe en hauteur et les feuilles anciennes avec leurs gaines brunissent et pourrissent, formant à toute la partie immergée de la plante une gaine

de matière organique brune qui n'est pas entièrement décomposée puisqu'il subsiste autre chose que les fibres des feuilles. Le développement des bactéries est arrêté par la présence du Na Cl. Le pigment brun n'est que le résultat d'une modification de la chlorophylle.

Prenons-en une poignée et agitons-la dans l'eau claire d'un cristalliseur, puis décantons. Nous obtenons une eau abondamment chargée de matière organique et très brune.

En 1924, un Ostréiculteur de Boyardville avait placé une certaine quantité d'Huitres dans l'un des réservoirs de ses marais salants, où le *Ruppia maritima* est particulièrement abondant. Il avait répandu ces Huitres un peu partout, surtout dans les parties les plus claires.

Il avait en effet déjà expérimenté, à ses frais, que les Huitres déposées au milieu des touffes trop épaisses périssaient rapidement.

J'ai eu l'occasion d'examiner quelques-unes de ces Huitres, deux mois après leur mise à l'eau. Elles étaient exagérément « grasses » et leurs branchies, palpes, ainsi que le bord du manteau étaient fortement pigmentés en brun. L'examen microscopique indiquait la même apparence du protoplasma épithélial de ces organes que pour les Huitres vertes, c'est-à-dire une teinte brune générale avec de nombreuses granulations de la même couleur.

Je n'ai pas entrepris d'expériences particulières pour montrer que l'absorption est directe ; malgré tout, nous pouvons dire, en nous appuyant sur les résultats définitifs obtenus et relatés ci-dessus, pour les Huitres vertes, que les Gryphées ont absorbé directement par la surface extérieure de leur corps au niveau des branchies, des palpes et du manteau, la matière organique pigmentée en brun, en solution dans l'eau environnante.

Cette absorption directe est venue s'ajouter à celle qui a eu lieu par voie intestinale pour permettre aux Huitres d'acquérir des réserves abondantes en peu de temps.

Je dois ajouter qu'elles ont un goût caractéristique que les Ostréiculteurs connaissent bien, car tous ont plus ou moins constaté le phénomène que je viens de signaler.

J'ai remarqué chez les Crustacés qui vivent dans ce milieu, une abondance particulière de pigment brun-noirâtre sous des formes variées, mais je n'ai pas eu le temps d'en faire l'étude particulière. Evidemment l'hypothèse qui vient tout de suite à l'esprit est que son origine est la même que pour l'Huitre. Il y a dans cette voie des recherches à entreprendre sur des faits dont il sera intéressant d'établir le déterminisme et qui viendront, à mon avis, compléter la série de ceux que j'apporte ici.

Je vais passer maintenant à l'étude de faits simplement expérimentaux.

d) Absorption des colorants vitaux

Mon intention est d'étudier, avant tout, dans ce paragraphe, la voie par laquelle se fait l'absorption de quelques colorants vitaux, surtout du rouge neutre, chez l'Huitre. Puis je dirai comment se présente ce rouge neutre dans les épithéliums absorbants et dans le sang, me réservant de discuter, dans un autre chapitre, certains points du mécanisme de cette absorption ainsi que celui du passage du colorant à travers le protoplasma épithélial pour arriver dans le sang et ceci après comparaison avec l'absorption d'autres substances.

De nombreux auteurs ont étudié l'action des colorants et surtout du rouge neutre sur les animaux vivants. La question est trop connue, je n'en ferai pas l'historique. Ce serait d'ailleurs beaucoup trop long et m'éloignerait de mon sujet, car je veux me placer, avant tout, à un point de vue très particulier, peu suivi dans les études antérieures, c'est celui de la voie par laquelle pénètre le colorant dans les tissus. On va voir que cette étude doit être faite.

Je ne m'occuperai que des recherches sur l'absorption des colorants par les Lamellibranches.

En 1892, PELSENEER, dans sa Note sur les Huîtres vertes, dit : « Le pigment insoluble des *Navicula* passe dans le sang ; et l'on constate expérimentalement qu'il se porte dans les branchies et les palpes (le même phénomène se produit d'ailleurs avec d'autres substances colorantes, par exemple des couleurs d'aniline, comme on peut l'observer sur divers Lamellibranches). Ce passage dans le sang a lieu par voie intestinale. Là les leucocytes s'en emparent et traversant l'épithélium branchial le rejettent à l'extérieur. »

En 1893, JOURDAIN dit : « On peut obtenir une coloration bleue localisée chez les Huîtres ou d'autres bivalves, en les faisant vivre dans des eaux tenant en suspension de l'indigo. » On a vu que JOURDAIN entrevoyait la voie réelle de l'absorption du pigment vert.

En 1895, DE BRUYNE étudie l'action du bleu de méthylène sur des Anodontes. Pour lui tout est phagocytose. Comme PELSENEER, il croit que le passage du colorant dans le sang a lieu par l'intestin, puis que les phagocytes s'en emparent et l'expulsent en traversant l'épithélium branchial en particulier. C'est leur présence dans cet épithélium qui donnerait sa couleur à la branchie.

Enfin, en 1914, dans sa Note sur les Huîtres vertes au Danemark, JOHN PETERSEN dit : « Si des Huîtres non colorées sont placées dans un aquarium dont l'eau est très légèrement colorée de méthyl violet, on remarque que les branchies sont déjà colorées au bout de trois heures de séjour, les autres organes semblent apparemment incolores. Les branchies, ainsi qu'on peut le prouver au moyen du microscope sont colorées de la même manière que celles des Huîtres vertes. Si l'on dissout une quantité encore plus petite de méthyl violet dans l'eau, de manière que l'eau semble presque incolore, on peut constater que les branchies présentent une coloration violette au bout d'un séjour de cinq heures. A la suite d'un bain de vingt heures, les branchies présentent une couleur violette très nette, le bord du manteau est très faiblement coloré, les palpes à peine et les autres organes sont absolument incolores. » Mais il reconnaît qu'il lui est impossible, pour le moment, de dire par quelle voie ces matières colorantes pénètrent dans les tissus.

D'une façon générale, c'est l'idée de PELSENEER et de DE BRUYNE qui est admise encore à l'heure actuelle.

Cependant, il est extrêmement simple de montrer qu'elle est erronée et que la présence du colorant, dans certains épithéliums, est due à son absorption directe tant par l'intestin que par la surface extérieure du corps, plus particulièrement au niveau des branchies et des palpes. C'est ce que je vais montrer maintenant en étudiant l'action du rouge neutre.

Absorption du rouge neutre. — Pour faire des observations précises il est nécessaire que l'absorption soit lente. Pour cela on doit employer une solution faible de rouge neutre, et expérimenter avec des Huîtres sortant de l'eau et non des Huîtres plus ou moins desséchées.

On peut suivre le phénomène en sciant, comme je l'ai déjà fait pour l'étude du verdissement, la moitié droite de la valve supérieure. Il faut avoir soin de ne pas toucher au muscle adducteur et de laisser intact le manteau.

1° Plaçons une telle Huître dans une eau de mer faiblement rougie par le rouge neutre. Surveillons attentivement le phénomène. On constate que les branchies se colorent d'une façon irrégulière. Des zones du feuillet branchial sont roses tandis que d'autres sont encore blanches. Au bout de quelques instants tous les feuillets branchiaux sont légèrement rouges ainsi que les papilles du bord externe du manteau. Ouvrons l'Huître. On peut s'assurer, en

examinant un lambeau de feuillet branchial, entre lame et lamelle, sous le microscope, que le colorant a bien pénétré dans le protoplasma épithélial.

On remarque que seules les branchies et les papilles du bord externe du manteau sont colorées. L'intestin ne présente aucune coloration ; et si l'on fait une prise de sang dans le cœur on ne trouve aucune trace du colorant dans les amœbocytes ;

2° Re commençons l'expérience en laissant l'Huitre immergée plus longtemps. En l'ouvrant, on remarque que toute la surface du corps de l'Huitre est colorée quoique très peu en certains endroits. Le colorant est concentré au niveau des branchies et des palpes. Le bord du manteau et les papilles le sont aussi fortement. Partout ailleurs on ne remarque, au binoculaire, par lumière directe, que des granulations ou groupes de granulations rouges assez disséminées.

En ouvrant le péricarde, on voit que l'oreillette est rouge. Examinée au microscope on la trouve bourrée d'amœbocytes contenant des granulations rouges. Une prise de sang, à tout autre niveau, nous montre d'ailleurs de nombreux amœbocytes avec des granulations rouges.

Ainsi cette seconde expérience nous indique que le colorant pénètre dans le sang, et la première, qu'il y pénètre par absorption directe, surtout au niveau des branchies, des palpes et du manteau ;

3° Une troisième expérience va mettre en évidence d'une façon très nette et définitive que l'absorption est directe. Elle correspond à l'expérience sur le verdissement. Elle est plus facile avec le rouge neutre parce que ce colorant est absorbé plus rapidement.

Il suffit de suspendre une Huitre au-dessus d'une solution de rouge neutre dans l'eau de mer, de façon qu'une partie de ses branchies seule plonge dans la solution. Une heure ou deux après on voit que seule la partie immergée des branchies et du manteau est rouge. Au microscope, on constate que le colorant se présente bien de la même façon dans le protoplasma épithélial et par une prise de sang, on constate qu'il est bien passé dans le sang, où on le trouve dans les amœbocytes.

Après cette série d'expériences, l'absorption directe du colorant par la surface extérieure du corps et surtout par les branchies ne fait plus aucun doute. Mais je veux en ajouter encore d'autres qui m'ont permis d'assister, sous le microscope, au passage du colorant de l'épithélium externe, dans le sang, chez l'animal vivant. Voici les conditions expérimentales. J'enlève la moitié droite de la valve supérieure d'une Huitre dont la valve inférieure est très étalée, de façon à pouvoir examiner une large surface horizontale du manteau.

Je laisse cette Huitre s'égoutter fortement. Je la porte sous le microscope binoculaire de façon à examiner la face interne du manteau en lumière directe donnée par une lampe électrique placée à quelques centimètres au-dessus. Avec une pipette, je mets quelques centimètres cubes de solution de rouge neutre dans l'eau de mer, sur le manteau. Je remarque que le manteau se gonfle ; puis sa surface devient rose et enfin des granulations rouges sont isolées ou groupées. On assiste alors très nettement à leur pénétration en profondeur dans l'épithélium, puis à leur libération dans les lacunes sous-jacentes. Aussitôt, avec une pipette très effilée, je fais une prise de sang par le manteau. Je constate que les granulations rouges sont dans des amœbocytes.

Nous avons donc bien assisté au passage du colorant dans le sang après absorption directe par le protoplasma épithélial du manteau. Il est inutile de dire que c'est un spectacle très attachant. Je reviendrai sur cette observation dans la seconde partie de ce travail.

Il est une observation très particulière que j'ai faite en même temps, et que je ne peux pas passer sous silence tant elle est intéressante. Lorsque, après plusieurs heures sous le binoculaire, le manteau s'est à nouveau légèrement desséché, on remarque que le protoplasma épi-

thélial du manteau qui paraît rouge par suite des granulations rouges qu'il contient, passe du rouge au jaune et inversement avec une vitesse extraordinaire, ce qui indique une grande rapidité dans le passage de l'alcalinité à l'acidité, phénomène, sans aucun doute, en rapport avec les échanges qui ont lieu entre le sang et le milieu extérieur à travers le protoplasma épithélial.

Nous avons vu qu'une Huître égouttée rougissait beaucoup plus rapidement et fortement que celle sortant de l'eau. L'absorption du colorant est donc liée à celle de l'eau par les tissus. Mais la coloration particulière des branchies et des palpes (face interne) nous laisse supposer qu'elle est liée aussi à un autre phénomène, à celui de l'absorption de l'oxygène. C'est ce que je vais montrer maintenant.

Une Huître préparée de la même façon que précédemment est laissée dans une solution faible de rouge neutre pendant quelques heures. Quand elle est bien rouge, je la retire et la mets dans de l'eau de mer pure. Trois ou quatre jours après on peut voir, même à l'œil nu, que les lacunes présentent des amas irréguliers d'amœbocytes rouges, et que l'artère marginale du manteau en est bourrée. Au binoculaire on peut assister à la circulation du sang grâce à la présence de ces amœbocytes rouges que l'on voit se déplacer, entraînés par le courant sanguin. Si on ouvre l'Huître, on voit que les oreillettes sont bourrées d'amœbocytes rouges.

Nous sommes donc ici en présence d'une surproduction d'amœbocytes (ou leucocytes) contenant des granulations rouges. Cet état correspond parfaitement à ce que des auteurs anglais ont appelé une « leucocytosis », dans d'autres circonstances sur lesquelles j'insisterai plus loin.

Nous pouvons provoquer rapidement cette surproduction d'amœbocytes, cette leucocytose rouge. Voici comment. Tout d'abord, nous pouvons la constater au bout de deux jours au lieu de quatre, en plaçant l'Huître rouge dans une eau de mer contenant en suspension de l'argile ou de l'encre ordinaire, ce qui a pour résultat de provoquer une plus grande activité des branchies de l'Huître.

Nous pouvons le constater en moins d'une heure, et avec autant d'intensité en plaçant l'Huître rougie dans une eau de mer pure et le tout dans une atmosphère très riche en oxygène.

J'ai opéré de la façon suivante. Dès que l'Huître est rouge (branchies et manteau), je la mets dans un flacon contenant de l'eau de mer pure, que je ferme bien hermétiquement. Dans le bouchon passent deux tubes. L'un qui va au fond du flacon et s'élève assez haut ; il m'indiquera, par le niveau auquel s'élèvera l'eau, la pression de l'O₂ à l'intérieur. L'autre, partant d'un appareil à production d'O₂ permettra à ce gaz de barboter dans l'eau.

On peut se rendre compte, à l'œil nu même, que le rouge neutre est passé dans le sang en quelques minutes. L'artère marginale et les lacunes du manteau sont déjà bourrées d'amas d'amœbocytes rouges.

Si nous laissons l'Huître pendant quelques heures dans l'eau saturée d'oxygène, nous voyons, à mesure que les vaisseaux et lacunes se remplissent d'amœbocytes rouges, que l'épithélium des branchies et du manteau se décolorent en surface. On ne trouve plus de granulations rouges qu'en profondeur.

Un excès d'oxygène a donc provoqué le passage rapide du rouge neutre à travers le protoplasma épithélial, en même temps qu'une production extraordinaire d'amœbocytes en un temps très court.

Ainsi l'absorption de l'oxygène favorise celle du rouge neutre.

J'ai dit que le rouge neutre se présente dans le protoplasma épithélial sous forme de gra-

nulations rouges. Sur des coupes à la congélation on remarque, comme pour toutes les autres substances, à la partie apicale une zone claire de protoplasma différencié, puis au contact du protoplasma non différencié, des granulations rouges mais pas de teinte rouge générale. En profondeur, on trouve des granulations rouges plus ou moins groupées. Les « cellules de sécrétion », d'abord sans couleur, prennent, par la suite, une teinte rose-jaune sans coloration spéciale de leurs grosses granulations.

Pour terminer cette étude sur l'action du rouge neutre, je vais examiner assez rapidement son excrétion. Le foie est rempli de granulations roses et rouges. Il semble qu'il y ait absorption et excrétion à son niveau.

L'organe de Bojanus et les oreillettes sont remplis d'amœbocytes rouges. Il y a, sans aucun doute, à leur niveau, une active excrétion. A la surface de l'oreillette, dans les grosses cellules, on remarque non plus les granulations rouges des amœbocytes, mais des gouttelettes, des amas, plus ou moins gros d'une substance rose-violacé.

Nous ne sommes pas étonnés de constater que le rouge neutre ne se présente pas de la même façon dans la glande de l'oreillette que dans l'épithélium des branchies et du manteau, car nous savons que les deux protoplasmas sont absolument différents.

Le rouge neutre a subi une modification chimique certaine. C'est à cet état qu'il est excrété. En effet, plaçons une Huitre rougie dans de l'eau de mer ordinaire après l'avoir bien lavée. Changeons l'eau tous les jours. Après trois jours de ce traitement, il n'y a plus de rouge neutre à l'extérieur du corps, ni dans l'appareil digestif. Plaçons cette Huitre dans un plus grand cristalliseur avec une Huitre blanche à côté d'elle. Trois ou quatre jours suffisent pour que les branchies de l'Huitre blanche prennent une teinte violacée qui correspond exactement à celle des gouttelettes de la surface de l'oreillette. La substance excrétée a été reprise dans l'eau par les branchies de l'Huitre blanche.

On pourrait montrer, de la même façon que je viens de le faire pour le rouge neutre, l'absorption directe de nombreux autres colorants vitaux. Je n'insisterai pas. Je veux seulement dire quelques mots de l'absorption du bleu d'aniline.

Plaçons une Huitre préparée comme l'on sait, dans une solution faible de bleu d'aniline dans l'eau de mer. Au bout de quelque temps, on s'aperçoit que l'eau se décolore, mais les branchies ne se colorent pas. Puisque l'eau se décolore, il y a eu certainement une modification du bleu d'aniline.

Je retire l'Huitre et verse sur les branchies de l'acide azotique dilué. Aussitôt elles bleuisent; que s'est-il passé? Les branchies n'ont absorbé que l'un des constituants incolores du sel coloré. Ce dernier s'est reformé sous l'action de l'acide, à l'intérieur du protoplasma épithélial. Cette expérience est intéressante parce qu'elle nous indique que l'absorption du colorant est accompagnée d'une véritable réaction chimique entre le protoplasma et ce colorant.

Je rappelle seulement pour mémoire, que j'ai pu observer l'absorption directe du rouge neutre par la surface extérieure du corps chez des *Bulla* sp. (au niveau de la sole pédieuse), puis chez un Turbellarié et enfin chez des Annélides.

e) Absorption de matières organiques diverses

1^o *Benzidine*. — Je vais étudier en premier lieu l'action de la Benzidine, qui est une matière organique complexe.

L'action de la benzidine a été beaucoup étudiée, en particulier sur les Lamellibranches,

pour la recherche des peroxydases. La benzidine, en solution légèrement acétique, serait oxydée en présence de H^2O^2 et d'une diastase, une peroxydase qui libérerait l'O. de H^2O^2 à l'état ionisé. Je ne m'occuperai pas du tout de la nature de la réaction chimique et ne discuterai nullement sur la présence ou non d'une peroxydase.

On connaît le travail classique de M. PRENANT. Je ne parlerai que des passages qui m'intéressent directement ici.

Prenons une Moule (*Mytilus edulis*) ; ouvrons-la sans précautions. Remplissons l'une des valves d'une solution légèrement acétique et filtrée de benzidiné dans l'eau de mer. Attendons quelques minutes, puis ajoutons quelques gouttes d' H^2O^2 (vieille si possible de trois ou quatre mois, donc très faible) ; on assiste à la pigmentation des branchies et des palpes en bleu. Si on examine les filaments branchiaux au microscope, on voit des granulations bleues très nombreuses dans la partie apicale du protoplasma épithélial.

Etant donné l'état physiologique dans lequel se trouve la Moule ainsi ouverte et la rapidité avec laquelle on obtient la réaction, on se demande comment on a pu accepter l'hypothèse classique de l'absorption intestinale suivie d'une excrétion au niveau des branchies. L'absorption directe est évidente dans cette seule expérience.

On peut obtenir la même réaction sur l'Huître en opérant de la même façon. J'ai toujours eu beaucoup moins d'insuccès avec H^2O^2 vieille et très faible.

Puis, j'ai voulu opérer d'une façon moins brutale ; j'ai fait vivre une Huître pendant vingt-quatre heures dans de l'eau de mer à laquelle j'ajoutais peu à peu une solution filtrée de benzidine. Si on transporte l'Huître dans de l'eau de mer pure à laquelle on ajoute de l'eau oxygénée, l'Huître sécrète du mucus, mais on n'obtient pas la réaction bleue parce que H^2O^2 n'est pas absorbée. H^2O^2 n'est jamais absorbée par l'animal vivant. Elle pénètre dans les tissus lorsque, en ouvrant l'Huître, on blesse les vaisseaux, le cœur, etc. en un mot, lorsque la circulation est profondément troublée. On voit par là que ce trouble amène une modification dans les réactions physico-chimiques du protoplasma de l'épithélium branchial. On obtient souvent par cette méthode des branchies brunes. H^2O^2 a été décomposé extérieurement et O absorbé.

Pour montrer également que la benzidine a été absorbée, il suffit d'ouvrir l'Huître et de la laisser exposée à l'air sans utiliser H^2O^2 . Les branchies brunissent par suite de l'oxydation par absorption d'oxygène. On constate alors que le protoplasma épithélial est bourré de granulations brunes. Si, au lieu de laisser ainsi l'Huître à l'air on la remplit d'eau de mer avec quelques gouttes d' H^2O^2 très vieille, on assiste, au bout d'une demi-heure, à la coloration en bleu des branchies, des palpes, de l'œsophago-pharynx et du manteau. Les granulations bleues correspondent exactement aux granulations brunes ci-dessus.

Il suffit d'opérer comme je l'ai fait pour l'absorption du pigment vert et du rouge neutre pour montrer que l'absorption est bien directe.

Nous voyons ainsi ce qu'ont véritablement de commun la pigmentation naturelle et les colorations expérimentales. Dans tous les cas, nous avons affaire à une absorption directe d'une substance organique au niveau de certains épithéliums de la surface extérieure du corps. D'autre part, nous constatons que le résultat de la réaction physico-chimique qui se produit entre le protoplasma et ces substances organiques, est le même dans tous les cas : une granulation.

Nous nous expliquons maintenant certaines observations de M. PRENANT. Cet auteur dit, dans son travail sur les peroxydases : « Le seul fait un peu frappant est la fréquence relative des localisations de ferments oxydants dans les tissus, particulièrement aérés, et notamment

dans les téguments et les organes respiratoires. On peut citer comme exemples celui des branchies, des Lamellibranches, des Prosobranches et des Amphineures, des organes branchiaux des *Chirocephalus*, *Daphnia*, *Mysis* et *Nebalia*, des branchies trachéennes larvaires de *Clæon*, des bandes paraendostylaires des Ascidies et para-architrochales des Rotifères, de la trochophore et de ses larves dérivées. »

Nous pouvons donc affirmer maintenant que, chez ces animaux, par les téguments et les organes respiratoires, en même temps que l'oxygène, la matière organique (benzidine) en solution dans l'eau est absorbée.

Je retiens aussi les observations intéressantes suivantes : « La Moule s'est montrée au contraire un animal très favorable à ce genre d'expériences, et l'on réussit très bien à lui faire fabriquer du pigment en la faisant vivre pendant deux ou trois jours dans des solutions de paraphénylènediamine, de paramidophénol, de diamidophénol, d'hydroquinone, de pyrogallol dans l'eau de mer. » Mais, contrairement à lui, nous dirons que ces substances sont absorbées, et non pas excrétées au niveau « des branchies, des palpes, du bord du manteau et à un moindre degré par le pied ». c'est-à-dire par les régions où se fait également l'absorption de l'oxygène. Il ajoute : « Les pigments artificiels formés dans ces régions sont brun-rouge, c'est-à-dire de couleur voisine du pigment naturel, avec l'hydroquinone et le pyrogallol ; ils sont d'un violet très foncé avec la paraphénylènediamine, et prennent avec le diamidophénol et le paramidophénol des couleurs intermédiaires, mais assez voisines du violet. »

Et je retiendrai aussi que « l'examen microscopique par compression, sur le frais, confirme que le pigment est granuleux et occupe exactement la même place que le pigment naturel d'une part, les granulations à peroxydase de l'autre ».

2° *Aniline ou huile d'aniline*. — On pourrait croire que l'aniline est toxique pour l'Huitre. Il n'en est rien. Une *Gryphæa angulata* vit très longtemps dans une très faible solution de cette substance, en ayant soin cependant de renouveler l'eau fréquemment. On sait que l'aniline qui est une monoamine ($C_6H_5NH_2$) forme avec l'eau une émulsion qui tient assez longtemps ; elle est même légèrement soluble dans l'eau qui, à 16°, en dissout 3,11 pour 100. Il suffit de laisser dans un tube contenant de l'eau un peu d'aniline pendant un mois ou deux pour avoir une solution jaune-brunâtre.

Je fais une émulsion d'aniline dans l'eau de mer en agitant fortement. J'en ajoute une petite quantité dans le cristalliseur où vit une Huitre à valve supérieure ouverte à demi. J'aère l'eau constamment, ce qui permet à l'émulsion de se maintenir en même temps qu'un peu d'aniline se dissout. Je change l'eau tous les jours. Deux ou trois jours après on peut se rendre compte que l'aniline a été absorbée par les branchies et le bord du manteau, qui sont légèrement jaune-brun. Un examen au microscope montre que le protoplasma épithélial de ces organes est bourré de granulations brunes. Si nous laissons l'Huitre dans ces mêmes conditions pendant cinq jours, en l'ouvrant on observe que les oreillettes et l'organe de Bojanus sont remplis d'une substance jaunâtre, ainsi que les lacunes du manteau où l'on distingue à l'œil nu des traînées de même couleur. Au microscope, ces amas se montrent formés d'amœbocytes (leucocytes) bourrés d'une matière jaunâtre en granulations plus ou moins nettes. Nous sommes en présence d'une « leucocytosis » ou surproduction d'amœbocytes, qui nous rappelle le même phénomène dû à l'absorption de rouge neutre.

Je dois ajouter que si on laisse l'Huitre très longtemps (une dizaine de jours) dans une telle solution d'aniline, l'Huitre sécrète au niveau de ses branchies un mucus abondant qui est rempli de granulations jaunâtres, très souvent dans les amœbocytes. Il s'agit là d'un phénomène pathologique.

Dans une autre expérience, au lieu d'utiliser l'aniline seule, j'ai pris de l'aniline rougie par du Sudan III. Le Sudan III, insoluble dans l'eau, se dissout en effet dans l'aniline aussi bien que dans les graisses. On voit que son action n'a rien de spécifique.

J'opère de la même façon en ajoutant toujours très peu de l'émulsion. L'Huitre présente pendant plusieurs jours une grande activité. Je l'ouvre au bout de cinq jours. Les branchies, les palpes et le bord du manteau ont une teinte rose pâle générale. Les oreillettes sont bourrées d'amas d'amœbocytes jaune clair. Des amas linéaires jaunes sont nombreux dans les lacunes du manteau.

L'examen microscopique des branchies sur le frais montre une teinte rose générale du protoplasma épithélial (partie apicale seulement) et des granulations jaunâtres dans ce même protoplasma. Il semble qu'il y ait eu dissociation des deux éléments apportés, le Sudan III restant dissout dans les lipoides du protoplasma. Il faut retenir que, dans ce cas, il n'y a pas de granulations rouges. Il y a seulement des granulations brunes, et dans les oreillettes, l'organe de Bojanus et les lacunes du manteau, les leucocytes en amas sont jaunes. Le Sudan III n'avait peut-être pas encore pénétré dans le sang ou bien il n'y pénètre que transformé.

Nous venons d'assister ici à un phénomène qui nous fait penser au verdissement de l'Huitre. Nous savons que le protoplasma épithélial des branchies, en dehors des granulations vertes possède une légère teinte générale verte. Elle est certainement due à une dissolution partielle du pigment vert de la matière organique absorbée dans les lipoides du protoplasma. Et nous nous expliquons alors pourquoi les branchies restent vertes très longtemps, même si l'Huitre est transportée sur un fond privé de *Navicula Ostrearia*.

3° *Coaltar* (goudron de houille). — Si on met une petite quantité de coaltar dans un tube d'eau de mer, il surnage. Mais au bout de deux ou trois jours on a une solution brunâtre. Ajoutons en très peu dans un cristalliseur où vit une Huitre et dont on change l'eau tous les jours. Au bout de huit jours, alors que l'Huitre ne paraît pas souffrir, on l'ouvre. Les branchies sont légèrement brunâtres. Le protoplasma épithélial est bourré de granulations de cette couleur. Les oreillettes et les lacunes du manteau sont remplies d'amas d'amœbocytes verdâtres. Il y a encore ici « leucocytosis » ou leucocytose.

Dans une autre expérience réalisée quelques mois après, mais avec une solution de coaltar vieille de deux mois, j'ai obtenu à nouveau une leucocytose. Cette fois les amas d'amœbocytes étaient jaunes et non verts. Je n'ai pas pu m'expliquer cette différence.

4° *Huile ordinaire en émulsion*. — Voici comment je la prépare. Dans un tube d'eau de mer j'ajoute un peu d'huile ordinaire. L'émulsion ne tient évidemment presque pas. J'ajoute très peu de Ko H. Il se forme un savon qui précipite et, grâce à lui, l'huile qui n'a pas été saponifiée reste plus facilement en émulsion.

a) *Huile colorée par le sulfate de Bleu de Nil*. — On sait que l'huile se colore en rouge. Au bout de deux ou trois jours on obtient une émulsion assez stable sans traiter par KoH. J'en ajoute quelques gouttes dans l'eau d'un cristalliseur où vit une Huitre. Je change l'eau tous les jours.

Quatre jours après, je l'ouvre. Je constate une forte leucocytose. Les lacunes du manteau et les oreillettes sont bourrées d'amœbocytes jaunâtres granuleux.

Examinons un lambeau de branchie au fort grossissement. Le protoplasma épithélial est très granuleux, avec une teinte rose pâle générale. Plus profondément on aperçoit des groupes de granulations roses. Mais les amœbocytes du sang ne portent plus trace du colorant.

b) *Huile colorée par le Sudan III*. — Ici j'ai traité par KoH pour avoir l'émulsion. Au bout de quelques jours, les branchies ont pris une teinte rose. Dans le protoplasma possédant

une teinte rose générale, on remarque de nombreuses granulations. En profondeur on voit des groupes de granulations roses. Dans le sang, de nombreux amœbocytes renferment des granulations roses.

Je n'ai pas constaté de leucocytose dans ce cas.

c) *Huile dans solution de sulfate de fer.* — Je traite par KOH pour avoir l'émulsion. Quatre jours après j'ouvre l'Huitre qui se montre extrêmement active. Les branchies sont très jaunes, ainsi que le bord du manteau. Dans le protoplasma épithélial, en surface, on observe un nombre considérable de granulations jaunes. Mais, ce qui montre que l'huile a été absorbée en même temps que le fer, c'est que les amœbocytes du sang sont bourrés de granulations brunes ou jaunâtres et qu'ils sont en quantité considérable, provoquant une leucocytose remarquable qui ne se produit pas avec le fer seul.

d) *Huile dans solution de sulfate de cuivre.* — Je traite par KOH pour avoir l'émulsion. L'Huitre résiste peu de temps. Quand je l'ouvre, elle est morte. Le cuivre est néfaste aux Huitres, même à faible dose. Par contre, les lacunes du manteau sont encore bourrées d'amas d'amœbocytes à granulations verdâtres. L'huile a provoqué une « leucocytosis ».

Dans ces dernières expériences, je me suis contenté de constater que la substance absorbée présente toujours la même répartition dans le protoplasma épithélial des branchies. J'ai trouvé inutile de refaire l'expérience pour montrer l'absorption directe à ce niveau.

LA « LEUCOCYTOSIS »

Maintenant je dois attirer l'attention sur le phénomène de « leucocytosis » que j'ai réalisé expérimentalement et très fréquemment, comme on vient de le voir. Il présente un grand intérêt puisque, dans la nature, certaines Huitres offrent cette particularité.

Le phénomène est exactement le même chez *Ostrea* et *Gryphæa*, je ne ferai donc pas de différence.

Ce sont les Anglais qui l'ont étudié avec le plus de soin, car l'ostréiculture anglaise en a beaucoup souffert. C'est qu'en effet, les Huitres de Falmouth, à l'embouchure du Fal, depuis fort longtemps, ont présenté une teinte verdâtre claire due à l'amas d'amœbocytes verts granuleux, dans les lacunes du manteau et dans le cœur surtout. Cette particularité considérée comme un cas pathologique a été désignée sous le nom de « green leucocytosis » par suite de la production anormale de leucocytes ou amœbocytes.

On avait remarqué que, près des fonds où vivent ces Huitres, se trouve du minerai de cuivre. Se confinant dans l'observation des Huitres de ce seul endroit, on en a évidemment conclu que l'absorption du cuivre était la cause de cette « maladie ».

Quelques-unes de ces Huitres provoquèrent des empoisonnements, ce qui vint appuyer l'hypothèse de l'action du cuivre.

Dès le début, les auteurs anglais ont reconnu que ce phénomène n'avait rien à voir avec celui du verdissement normal des Huitres de la région de Marennes.

Examinons d'un peu plus près la question.

En 1866, O'SCHAUGHNESSY rapporte le phénomène à la présence des mines de cuivre dans le voisinage. Mais c'est surtout BOYCE et HERDMAN en collaboration avec le chimiste KOHN, qui l'ont longuement étudié. On trouve les résultats de leurs travaux dans plusieurs notes dispersées dans divers recueils, et il n'est pas très facile de les rassembler. On trouve rarement signalée toute la série dans les bibliographies.

En 1895, HERDMAN rapporte qu'il a élevé des Huitres dans des solutions de sels de cuivre

sans observer rien de particulier. D'autres auteurs ont fait cette expérience, et moi-même je l'ai tentée. J'ai toujours constaté que le cuivre est toxique pour les Huitres et qu'elles n'acquièrent aucune couleur caractéristique dans ses solutions. HERDMAN émet des doutes sur l'action du cuivre dans la leucocytose des Huitres de Falmouth.

En 1896, HERDMAN dit des Huitres anglaises : « La couleur vert pâle de ces dernières est due à une mauvaise santé des Huitres, à une « leucocytosis ». Les masses vertes correspondent à une accumulation de leucocytes qui ont une teinte verte. Ces cellules sont granulaires et amœboïdes. Les granules n'ont pas donné de réaction bien nette avec les couleurs d'aniline. »

En 1897, il signale qu'il a observé la même « leucocytosis » dans des Huitres américaines (*Ostrea virginica*) chez lesquelles le cuivre était abondant. Ces Huitres ne seraient ni sur des fonds près de mines de cuivre, ni sur des restes de vieux bateaux. Il rappelle ses élevages négatifs dans des solutions de sels solubles et insolubles de cuivre. Il suggère l'idée que la pigmentation doit être due à un mauvais métabolisme par lequel le cuivre normal du corps est emmagasiné dans certaines cellules, car il a constaté, par des réactions chimiques la présence du cuivre dans les leucocytes.

En 1898, BOYCE et HERDMAN publient un travail assez complet sur le même sujet. Après l'historique, la description de la « green leucocytosis » et des réactions chimiques faites, ils concluent ainsi : « Nos résultats ont montré la présence de cuivre en quantités assez fortes dans les leucocytes verts, principalement dans les Huitres américaines, mais aussi dans les « natives » de Falmouth et des autres localités. Nous avons montré que la couleur était en proportion de la quantité de cuivre présente et que les leucocytes sans couleur contiennent seulement des traces de ce métal. Ce dépôt important de cuivre nous apparaît comme un phénomène de dégénérescence ; il est accompagné d'une forte production de leucocytes ».

Cette surproduction de leucocytes serait une manifestation pathologique. Le phénomène peut être constaté loin de toute source de cuivre.

« Nous sommes inclinés à penser que cet excès de cuivre est dû à une maladie (disturbed metabolism), le cuivre normal du corps étant accumulé, par suite, dans certaines cellules. »

En 1899, HERDMAN, BOYCE et KOHN, publient une nouvelle note où ils disent que dans les Huitres de Falmouth le cuivre se trouve à l'état de carbonate de cuivre basique à la surface du corps et à l'intérieur de leucocytes nombreux.

Enfin, dans une autre note de HERDMAN et BOYCE, parue en 1899, on trouve : « Dans les Huitres de Falmouth, contenant une quantité excessive de cuivre, nous trouvons que la plus grande partie du cuivre est certainement mécaniquement fixée à la surface du corps et qu'il est sous une forme insoluble dans l'eau, probablement sous forme de carbonate basique. Cependant les Huitres de Falmouth doivent contenir une plus forte quantité de cuivre dans leurs tissus que les Huitres normales sans couleur. Dans ces Huitres de Falmouth la cause de la couleur verte doit être la même que dans les Huitres vertes américaines. » Puis ils ont remarqué que le cuivre se trouve en notable quantité dans les leucocytes qui sont en très grand nombre. Et ils ajoutent à nouveau que leurs élevages d'Huitres dans des solutions de sels métalliques variés n'ont donné aucun résultat.

De l'ensemble de leurs observations, il ne ressort rien de très net, et il semble bien que les auteurs eux-mêmes, tout en reconnaissant la présence d'une quantité relativement grande de cuivre dans les Huitres verdâtres, ne soient pas très fixés sur le rôle du cuivre dans le phénomène. Pour HERDMAN, l'accumulation du cuivre ne serait que le résultat d'une maladie provoquant

une surproduction de leucocytes, mais non pas de l'absorption de cuivre pris à l'extérieur, car on peut constater le phénomène loin de toute source de cuivre.

Après toute cette longue étude, nous ne sommes qu'en présence d'hypothèses.

Dans son travail de 1923 (1924), J. H. ORTON est amené accidentellement à parler des Huitres américaines et de Falmouth. Il rappelle les travaux ci-dessus et ne fait que confirmer la présence du cuivre dans ces Huitres. Il a trouvé de celles-ci à leucocytose verte en pleine reproduction. Elles ne paraissent pas malades. Mises sur d'autres fonds, elles mettent un an et plus, dit-il, à se débarrasser de leur couleur.

Dans son Rapport de 1924 (paru en 1926) sur la visite des Bancs d'Huitres de l'Estuaire du Fal, il apporte, sur le sujet, des observations tout à fait nouvelles et très intéressantes : « En mai 1921, des Huitres et des *Pecten varians* de Mylor Bank et Saint-Just-Channel montraient une forte coloration verte du corps. Des analyses de ces Huitres ont été faites, et la coloration verte paraissait être due à l'absorption de quantités importantes de cuivre. Depuis, les Huitres en 1924 ne montraient rien de semblable à la coloration verte de 1921 (la différence est aussi grande qu'entre les couleurs 301 (grass green) et 328 D (Newton-apple-green) dans le code des couleurs de Klincksieck et Valette. Cela indique que sur les fonds de Mylor bank, les Huitres ont absorbé, en 1924, moins de cuivre qu'en 1921, et si cela est ainsi, un temps très court a suffi pour les rendre propre à la consommation, ou bien que les Huitres absorbent différentes quantités de cuivre à différentes saisons de l'année mais que dans ce cas, elles en absorberaient moins dans la période de dragage. » Et il conclut : « L'auteur est pleinement d'avis que la « greeness » est due à une autre cause que l'absorption de métal et distingue cette « greeness » de celle qui affecte seulement les branchies ou les palpes et ne s'étend pas ailleurs sur le corps. »

HERDMAN avait déjà dit que la leucocytose verte n'est pas due à l'absorption de cuivre mais à un mauvais métabolisme de l'Huitre. ORTON nie l'action du cuivre et n'émet aucune hypothèse.

Observations personnelles : On ne sait malheureusement pas exactement d'où venaient les Huitres américaines verdâtres, observées par HERDMAN. Je retiens que les Huitres de Falmouth se trouvent dans un estuaire, à proximité d'un grand port.

J'ai eu, à maintes reprises, l'occasion d'examiner des Huitres portugaises draguées sur un banc assez bas de l'embouchure de la Gironde, près du Verdon. Ces Huitres, dans un très mauvais état physiologique, présentent une très forte leucocytose verte par suite de la présence d'amœbocytes verdâtres dans les lacunes du manteau, dans les oreillettes et quelquefois, mais très rarement, dans le ventricule. Nous sommes bien en présence de la « green leucocytosis » des anglais.

Or, par l'analyse chimique ordinaire, je n'ai pas pu déceler de cuivre. Il est possible qu'on en trouve par le procédé électrolytique, mais alors des quantités très petites qui se rencontrent dans beaucoup d'Huitres ne présentant pas ce phénomène.

Puis, j'ai reçu de l'île de Ré, des Huitres présentant une leucocytose verte caractéristique, dans lesquelles j'ai constaté nettement la présence du cuivre.

Enfin, depuis deux ans, il arrive dans la région de Marennes, par suite du manque de naissain, de grandes quantités d'Huitres provenant de l'embouchure du Tage, près de Lisbonne, exactement de Montijo. Or, la plupart de ces Huitres présentent une leucocytose verte extrêmement étendue. En ouvrant certaines d'entre elles, on ne distingue presque plus qu'une seule masse verte. De plus, elles présentent une teinte verdâtre générale de tous les tissus, tant à l'extérieur qu'à l'intérieur du corps. Le

muscle adducteur des valves lui-même est coloré ce qui les différencie un peu des précédentes.

L'analyse chimique ordinaire n'a pas permis de déceler du cuivre dans ces Huîtres.

De ces observations, nous pouvons conclure, comme les auteurs anglais, que la leucocytose verte n'est pas due à l'absorption de cuivre. Mais, nous ne pouvons pas retenir l'hypothèse de HERDMAN qui considère la surproduction de leucocytes comme le résultat d'un mauvais métabolisme interne, parce que cette hypothèse ne repose sur rien.

Au contraire, nous avons vu, dans les pages précédentes, que j'ai obtenu des cas absolument nets de leucocytose qui résultent de l'absorption, tant par voie intestinale que par la surface extérieure du corps, de matières organiques en solution dans l'eau. J'ai obtenu une leucocytose rouge avec le rouge neutre ; une leucocytose jaunâtre et une verdâtre avec le coaltar ; enfin une leucocytose jaunâtre avec de l'huile, et ceci plusieurs fois. On peut conclure que, dans la nature, il s'agit d'un phénomène semblable dû à la présence dans l'eau, juste au-dessus des fonds de ces régions, de matières organiques. C'est leur absorption qui provoque la leucocytose. La nature de cette matière organique nous donnerait peut-être la raison de la coloration verte des amœbocytes qui en sont bourrés.

Le fait de constater ce phénomène uniquement près de grands ports, où les bateaux déversent des matières organiques variées, vient appuyer cette idée qui a cependant besoin d'être vérifiée par des observations directes dans la nature, avant de devenir une certitude.

Je dois ajouter que j'ai examiné des Huîtres venant de Montijo et ayant vécu un an et demi en pleine mer sur les fonds de la région de Marennes ; quelques-unes avaient perdu toute trace de coloration, mais la plupart étaient encore verdâtres au niveau du manteau et des oreillettes ;

5° *Lait*. — On obtient très facilement une émulsion de lait dans l'eau de mer.

J'en ajoute quelques gouttes chaque jour dans le cristalliseur où vit une Huître. Je change l'eau tous les jours.

L'animal présente une activité extraordinaire. Cinq jours après, je l'ouvre. Les branchies et le manteau ont un aspect blanc-grisâtre. Le bord du manteau avec les papilles est gonflé et nettement blanc-grisâtre. L'examen au fort grossissement de lambeaux de branchies ou du manteau montre que le protoplasma épithélial est fortement bourré de granulations.

Si on opère maintenant sur une Huître dont la moitié de la valve supérieure est enlevée, on peut se rendre compte, au binoculaire, en lumière directe, qu'un nombre beaucoup plus grand d'amœbocytes circulent dans les lacunes du manteau. On assiste aussi à l'acquisition certaine de réserves. Non seulement le lait a été absorbé, tant par voie intestinale que par la surface extérieure du corps, mais il a été utilisé.

6° *Jaune d'œuf*. — J'opère de la même façon qu'avec le lait. J'ouvre l'Huître six jours après le début de l'expérience. Les branchies et le manteau, surtout au niveau du bourrelet marginal, sont jaunâtres. Le protoplasma épithélial est bourré de granulations. L'absorption directe est certaine. Si on fait une prise de sang on trouve de nombreux amœbocytes granuleux et jaunâtres ;

7° *Matières albuminoïdes*. (Liquide résultant de l'écrasement de Lamellibranches.) — En 1921, L. JOUBIN, dans une note inédite (1), intitulée : « Expériences sur l'alimentation artificielle des Huîtres et Moules, en bassin », émet l'hypothèse de l'absorption des matières albuminoïdes en solution dans l'eau par les Lamellibranches, mais sans dire si cette absorption

(1) Je tiens à remercier vivement M. le professeur JOUBIN de m'avoir permis de la reproduire en partie.

est possible par la surface extérieure du corps. Il a entrepris des expériences dont les premiers résultats confirment son hypothèse. Voici ce qu'il en dit : « La proportion d'albumine contenue normalement dans l'eau de mer est très faible; or, c'est cette albumine qui constitue l'aliment principal des Mollusques bivalves. Il s'agissait de savoir si, en augmentant la proportion d'albumine, les Mollusques l'absorberaient et en profiteraient.

J'ai tenté, dans ce but, l'expérience suivante. Si on utilise deux claires contiguës, de même taille, forme, profondeur, exposition, etc..., si on laisse l'une dans l'état habituel tandis que l'on augmente l'albumine dans l'autre, on constate que les Huitres de la seconde ont grandi, grossi et engraisé beaucoup plus et plus vite que dans la première.

De ce fait, on peut conclure qu'en alimentant les Huitres par addition d'albumine on pourra accélérer leur pousse et augmenter le nombre d'Huitres par mètre carré.

Ce qu'il faut trouver, en outre, c'est la proportion à établir entre le nombre des Huitres par mètre et la quantité d'albumine à leur donner.

L'expérience seule montrera quelle est la proportion la plus favorable et le meilleur équilibre à trouver selon la saison, la température, la salure de l'eau, etc...

Il s'agissait en outre de déterminer sous quelle forme économique et pratique l'albumine peut être donnée.

Voici à quel procédé je me suis arrêté.

Pour une claire de 100 mètres carrés, prendre un kilo environ de Moules, Sourdons, Lavignons (n'importe quel bivalve sans valeur) ; mettre dans un seau et les écraser pour en faire une bouillie ; remplir ensuite le seau d'eau de mer, bien remuer ; laisser reposer ou passer sur un tamis ou sur une toile pour séparer les débris ; lancer le liquide ainsi obtenu dans la claire en le distribuant aussi également que possible.

Dans les premières expériences cette opération fut faite une fois par quinzaine et les résultats ont été bons.

On pourrait essayer de la faire tous les jours, puis, s'il n'y a pas d'accident, tous les huit jours. Mais, il ne faut pas dépasser la capacité d'absorption des Huitres et leur donner plus d'albumine qu'elles ne peuvent en absorber, car on risquerait de provoquer des fermentations putrides dans l'eau. »

J'ai personnellement tenté de faire vivre des Huitres dans des cristallisoirs où j'ajoutais quelques centimètres cubes du liquide obtenu comme il est dit ci-dessus. Je changeais l'eau tous les jours. Les Huitres présentaient toujours une grande vitalité et, au bout de dix jours, on pouvait constater qu'elles avaient acquis des réserves. Les amœbocytes granuleux étaient particulièrement abondants dans le sang.

D'autre part, la quantité extraordinaire de granulations dans le protoplasma épithélial des branchies et du manteau indique qu'il y a eu une absorption directe en dehors de l'absorption intestinale.

8° *Amidon*. — Je fais bouillir de l'amidon dans de l'eau de mer, puis je filtre. Je m'assure de la présence d'amidon dans le filtrat par la réaction de l'iode.

J'en ajoute quelques gouttes chaque jour dans un cristallisoir où vit une Huitre maigre prise dans un lot d'Huitres très maigres. Je change l'eau tous les jours. Six jours après, j'ouvre l'Huitre. Elle a acquis des réserves, d'une façon certaine, au niveau des glandes génitales et aussi du manteau. Sa vitalité a toujours été très grande.

Le protoplasma épithélial des branchies et du manteau est bourré de nombreuses granulations.

Dans une seconde expérience faite dans les mêmes conditions, mais avec une Huitre mai-

gre dont j'avais enlevé la moitié antérieure de la valve supérieure, j'ai pu assister à l'acquisition de réserves. L'Huitre présentait toujours une très grande vitalité.

Dans les deux cas, je n'ai pas réussi à mettre en évidence l'amidon dans le protoplasma épithélial des branchies par l'action de l'iode. Aussitôt que l'amidon absorbé entre en liaison avec le protoplasma épithélial, il doit être transformé, en glycogène peut-être.

9° *Sucres.* — L'absorption des sucres par les Huitres a été étudiée, mais l'auteur n'a pas envisagé la possibilité d'une absorption directe par la paroi extérieure du corps, par les branchies, les palpes et le manteau en particulier. Je vais cependant parler rapidement des expériences qu'il a faites.

En 1917, PH. H. MITCHELL fait vivre des Huitres dans des solutions de dextrose; il constate qu'elles y vivent très bien et qu'elles acquièrent même des réserves en glycogène. Voici les conclusions de son travail :

« 2. Les Huitres peuvent former du glycogène par absorption de dextrose. Une mise en réserve de graisse peut avoir lieu simultanément.

« 3. Les conditions de cette mise en réserve sont les suivantes : a) La durée de l'action du dextrose ne doit pas dépasser deux ou trois jours ; b) La concentration du dextrose ne doit pas dépasser environ 0,25 pour 100 ; c) la densité de l'eau ne doit pas beaucoup différer de celle dans laquelle elles ont été prises ».

J'ai fait vivre personnellement des Huitres dans du glucose, du saccharose à 0,25 pour 100 et du glycogène à 0,125 pour 100, en ayant soin de changer l'eau tous les jours.

Avec le glucose, je n'ai jamais rien observé de particulier, sauf qu'à cette concentration l'Huitre montre toujours une grande vitalité.

Avec le saccharose et le glycogène surtout on assiste à la formation de réserves. On constate que l'épithélium branchial et palléal est bourré de granulations. Il y a eu absorption directe.

10° *Rôle de l'eau douce dans l'absorption directe des matières organiques en solution dans l'eau.* — Plaçons une Huitre dans une eau de mer très diluée par rapport à celle d'où elle sort. Si nous l'ouvrons vingt quatre heures après, nous constatons qu'elle est fortement gonflée. Nous verrons, dans la seconde partie, que nous ne sommes pas seulement en présence d'une perméabilité osmotique de la paroi extérieure du corps, mais que le protoplasma épithélial de cette paroi joue un rôle essentiel dans l'absorption de l'eau. Celle-ci à lieu, à nouveau, au niveau des branchies, des palpes, puis du manteau. Dans la nature il est fréquent de trouver des Huitres dans des endroits où l'eau douce se mélange en très grande abondance à l'eau de mer, lorsqu'on remonte assez haut par exemple l'embouchure des fleuves ou bien à proximité des égouts d'une ville, etc. Dans tous ces cas, on a remarqué, depuis longtemps déjà, que les Huitres n'étaient pas seulement gonflées mais étaient pourvues de réserves extrêmement abondantes. Elles sont « grasses » d'une façon exagérée.

Sans aucun doute, l'excès d'eau douce facilite l'absorption des matières organiques en solution dans l'eau et plus particulièrement par la voie qu'elle suit elle-même, c'est-à-dire par la surface extérieure du corps.

Si nous jetons maintenant un coup d'œil en arrière, sur les pages précédentes, nous voyons que, tout d'abord, j'ai établi d'une façon aussi nette que possible le déterminisme de la marche du verdissement des Huitres. Il est le fait de l'absorption directe par la surface extérieure du corps au niveau des branchies, des palpes et du bord du manteau, autant que par voie intestinale d'une matière organique pigmentée, en solution dans l'eau de mer, qui est le

produit de l'activité particulière d'une Diatomée, le *Navicula Ostrearia* Bory. J'ai été conduit, en même temps, à établir le déterminisme de la pigmentation de cette Navicule.

J'ai montré ensuite que le phénomène est le même chez tous les Lamellibranches, les Gastéropodes et enfin chez de nombreux autres animaux marins appartenant à des groupes les plus variés.

Chez les Copépodes, plus particulièrement, il y a absorption et on constate assez facilement l'utilisation dans l'œuf de la matière organique absorbée. On a vu que les Copépodes absorbent et utilisent de la même façon la matière organique pigmentée provenant de Diatomées brunes. Le rôle extrêmement important des Diatomées, en ce qui concerne la production de matière organique soluble dans l'eau de mer, est apparu.

Enfin, j'ai montré que d'autres matières organiques extrêmement variées peuvent être absorbées par le même voie. Parmi celles-ci certaines peuvent être utilisées par l'animal, les unes sont neutres et enfin d'autres sont nettement nuisibles. Ces faits se suffisent à eux-mêmes et indiquent qu'il n'y a aucune finalité dans le phénomène. Lorsqu'on a établi le déterminisme précis d'un phénomène, il n'est plus besoin de longues discussions pour réduire à néant les théories finalistes à son sujet ; quelques mots suffisent.

CHAPITRE III



Absorption de matières organiques dissoutes par la surface extérieure du corps, chez d'autres animaux aquatiques, d'après des travaux antérieurs.

Je vais maintenant rapporter des observations qui complètent les miennes et qui établissent, comme elles, la possibilité de l'absorption de matières organiques dissoutes par la surface extérieure du corps. J'examinerai d'abord celles qui s'en rapprochent le plus, tant par l'animal choisi que par la méthode suivie. Ce sont les observations de E. P. CHURCHILL, sur *Quadrula* et *Anodonta*.

Des Moules d'eau douce vivent plus d'un mois dans une solution de substance grasse (huile saponifiée, 0,001 à 0,005 pour 100). Il en élève, dans des solutions ordinaires ou dans des solutions de substance grasse rougie par le Sudan III, pendant 10 ou 15 jours, puis il pratique des coupes soit après fixation, soit après congélation à divers niveaux. Dans tous les cas, il opère de la même façon sur les témoins. Ce sont les jeunes exemplaires qui donnent les meilleurs résultats.

Il constate alors que, chez des *Quadrula ebena* ayant vécu quinze jours dans une solution à 0,001 pour 100, les cellules épithéliales des branchies et les corpuscules sanguins sous-jacents sont bourrés de granulations graisseuses, l'épithélium de l'intestin, des palpes et du manteau également, mais en moins grande quantité.

Chez un *Anodonta imbecillis* ayant vécu dix jours dans une solution à 0,002 pour 100, il constate que l'épithélium du pied est rempli de granulations graisseuses. De nombreux corpuscules sanguins en contiennent. Il en trouve un très grand nombre dans les cellules du foie, ainsi que dans les cellules épithéliales de l'intestin, des branchies et du manteau. Dans les vaisseaux sanguins, immédiatement au-dessous des cellules épithéliales, il note de nombreux corpuscules sanguins avec granulations graisseuses ; certains de ces corpuscules sont encore accolés à la base des cellules.

Avec l'Huitre colorée par le Sudan III, il remarque que le pied et les branchies sont rouges et des granulations rouges se présentent dans les coupes, comme ci-dessus.

Pour montrer que l'absorption a eu lieu aussi bien par la surface extérieure du corps que par l'intestin, il fait vivre les Moules dans la solution grasse pendant des temps variables : 4, 7, 18 et 24 heures, puis il y fait des coupes. Il résume ses résultats ainsi :

« 1. Plus de graisse a été trouvée dans l'épithélium du manteau, des branchies et du pied que dans celui des l'intestin.

« 2. Dans le cas des Moules qui ont été maintenues de 4 à 7 heures, dans la solution on trouve de la graisse uniquement dans les divers épithéliums.

« 3. Dans les Moules ayant séjourné 18 heures dans la solution, on trouve plus de graisse dans les épithéliums que dans le cas précédent et une très petite quantité est observée à divers points sous l'épithélium mais pas du tout en profondeur.

« 4. Dans les Moules ayant séjourné 24 heures dans la solution, on trouve une quantité particulière de graisse dans les épithéliums puis, immédiatement sous l'épithélium, les granulations diminuent en quantité à mesure qu'on s'avance en profondeur.

« 5. On ne trouve pas de graisse dans l'épithélium du manteau en contact avec la coquille.

« 6. On ne trouve presque pas de graisse dans les cellules du foie », et il ajoute : « De ces faits, il résulte qu'il est très probable que la graisse est absorbée par l'épithélium externe du corps aussi bien que par celui de l'intestin. »

Pour montrer d'une façon définitive que la substance grasse est bien absorbée directement par la surface extérieure du corps, il entreprend l'expérience suivante : Il ouvre avec des pointes en bois les valves de trois Moules qu'il suspend au-dessus de la solution de graisse de façon à ce que seule la partie ventrale du manteau et du pied soit immergée dans la solution. La bouche et les siphons étaient hors de l'eau. Une de ces Moules est laissée ainsi pendant six heures et les autres vingt-deux heures. Il les compare avec un témoin.

L'une de celles maintenues pendant vingt-deux heures avait peu de graisse dans les tissus profonds du corps, mais l'épithélium de la partie du manteau immergée en contenait une certaine quantité. La seconde en contenait un peu dans le corps et beaucoup dans l'épithélium du manteau.

La Moule traitée pendant six heures présente une faible quantité de graisse dans l'épithélium de la partie ventrale du pied, mais pas dans les autres parties. L'épithélium de l'intestin ne présente jamais de graisse.

CHURCHILL conclut : « Il est hautement probable que l'épithélium du manteau et du pied absorbent la graisse directement de la solution. »

Pour cet auteur, les corpuscules (amœbocytes) du sang prennent la graisse à la partie inférieure des cellules épithéliales et la transportent aux différentes parties du corps. La graisse peut aussi être transportée directement par le plasma.

Dans un second travail, paru en 1916, il montre d'une façon aussi nette, par la même méthode qui consiste à suspendre l'animal au-dessus de la solution de matière organique ou bien à obturer la bouche avec de la paraffine, que les Moules d'eau douce absorbent, par la surface extérieure de leur corps, de la graisse (savon du commerce), des protéines (blanc d'œuf) et de l'amidon. Il constate que l'absorption a lieu au niveau des branchies, des palpes, du pied et du manteau. Il trouve toujours que la matière organique se présente sous forme de granulations plus ou moins nombreuses dans les épithéliums de ces organes.

La question du passage de la matière organique absorbée de l'épithélium dans le sang ne fait pas l'objet d'une étude spéciale. Il trouve, sur ses coupes, des amœbocytes chargés de cette matière, entre les cellules épithéliales ou à la base de ces mêmes cellules. Il en conclut que les amœbocytes viennent y chercher la substance et, revenant dans la lacune, la portent aux différentes parties du corps. C'est l'explication que donnait CARAZZI du passage du pigment vert de l'épithélium dans le sang. J'ai dit qu'on ne pouvait plus, à l'heure actuelle, se contenter de cette explication. Il est étonnant d'ailleurs qu'un esprit biologique, expérimentateur, comme CHURCHILL se soit contenté de tirer de telles conclusions d'une simple constatation sur coupes. Il n'a fait qu'adopter une hypothèse classique car, je le répète, ceci ne faisait pas spécialement partie de son étude, qui avait essentiellement pour but de montrer, d'une façon définitive, que

des substances organiques en solution dans l'eau pouvaient être absorbées par la surface extérieure du corps des Moules d'eau douce. Je reproduis ci-dessous quelques-unes de ses figures prises dans ses deux mémoires.

Ses belles expériences s'ajoutent tout naturellement à la seconde série des miennes. Mais, en dehors de l'absorption directe par la surface extérieure du corps, je veux attirer l'attention sur la façon dont se présente, dans le protoplasma épithélial, la substance organique absorbée. Ici encore nous la voyons sous forme de granulations. C'est donc, en général, le premier résultat visible de l'absorption d'une matière organique par l'épithélium externe chez les Lamellibranches.

Examinons maintenant quelques travaux sur l'absorption de substances organiques dissoutes par les Protozoaires.

LUND, en 1914, observe que si des Protozoaires (*Bursaria*) sont élevés dans de l'eau pure à laquelle

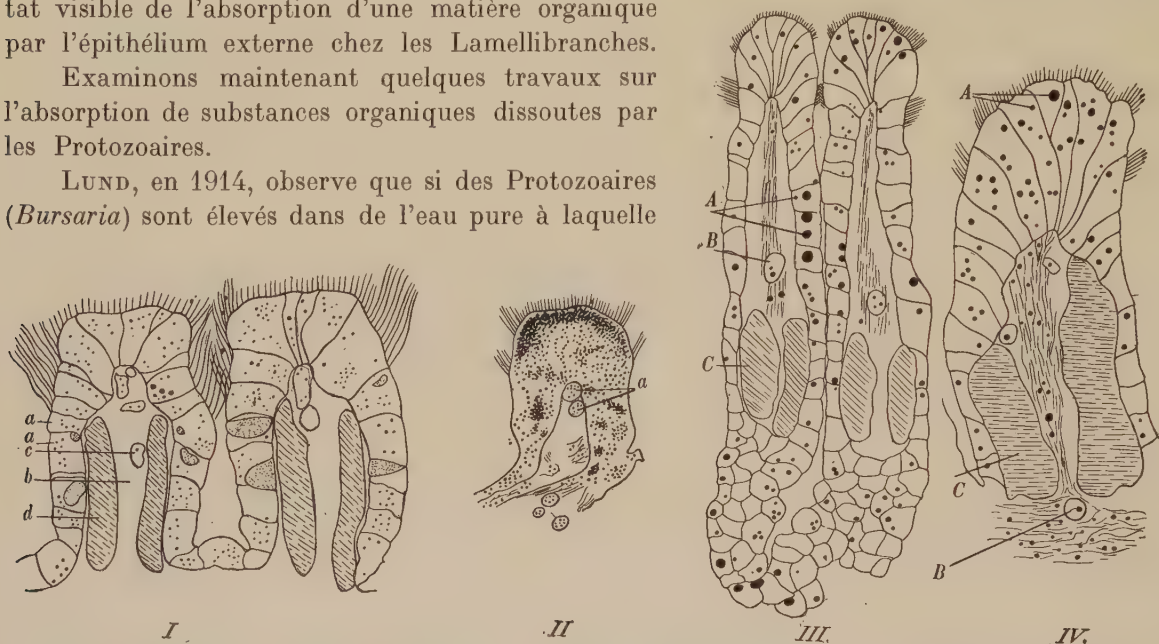


FIG. 15. — I. Filament branchial de *Quadrula ebena* adulte, qui a vécu pendant quinze jours dans une solution de substance grasse (CHURCHILL, 1915, pl. I, fig. 1); a Cellules épithéliales; b Vaisseau sanguin; c Amœbocyte; d Tige chitineuse.

II. Filament branchial d'une jeune *A. imbecillis* maintenue pendant dix jours dans une solution de substance grasse (CHURCHILL, 1915, pl. I, fig. 10); a Amœbocytes.

III. Filament branchial de *Quadrula ebenus* qui a vécu dans une solution de savon pendant cinq jours (CHURCHILL, 1916, pl. I, fig. 1); A Granulations de substance grasse; B Amœbocytes contenant des granulations de substance grasse; C Tige chitineuse.

IV. Filament branchial d'*Anodonta imbecillis* qui a vécu pendant cinq jours dans une solution de savon colorée par le Sudan III (CHURCHILL, 1916, pl. I, fig. 4); A Granulations colorées de substance grasse; B Amœbocyte contenant des granulations colorées de substance grasse; C tige chitineuse.

on ajoute une émulsion d'huile d'olive, ils absorbent cette huile à travers les parois de leur corps; il apparaît des gouttelettes de graisse dans le protoplasma. Nous avons encore ici : absorption directe par la surface du corps et apparition de gouttelettes ou granulations dans le protoplasma.

L'huile de paraffine qui pénètre dans le protoplasma n'est pas digérée. Elle est rejetée graduellement par petits globules.

PETERS, en 1921, a obtenu des cultures pures d'un Protozoaire, *Colpidium colpoda*, en milieu synthétique. Il les a étudiées pendant un an. Il leur fournissait du glycérophosphate d'ammonium comme unique source d'azote, et de la glycérine ou de l'acide propionique comme source de carbone.

CEHLER et LWOFF ont essayé de les reproduire, mais sans résultat. Cependant LWOFF a obtenu des cultures pures sur d'autres milieux, en particulier dans du bouillon peptoné dilué au tiers. Les Infusoires y vivent et se multiplient. Ils restent vivants pendant plus de trois mois. Voici sa conclusion : « Il est évident que, dans ces conditions, la nutrition des ciliés se fait uniquement aux dépens des substances dissoutes. Quelle est la voie d'absorption de ces substances ? Nous pensons, sans pouvoir en fournir de preuves, que l'absorption se fait par la voie ectoplasmique et que la nutrition est purement osmotique. La nutrition osmotique est d'ailleurs la seule qui existe chez les Infusoires astomes, aussi bien chez les endoparasites, placés évidemment dans des conditions particulières, que chez les phorétiques, *Sphenophrya*, *Pelecypophrya* qui, ainsi que nous l'avons montré avec M. CHATTON, se nourrissent uniquement aux dépens des substances dissoutes dans de l'eau de mer baignant la cavité palléale des Mollusques infectés. »

Dans le protoplasma il ne trouve aucune inclusion étrangère, ce qui les différencie des Infusoires absorbant des substances solides qui renferment toujours des vacuoles digestives en plus ou moins grand nombre.

Quant au terme de « nutrition osmotique » employé par l'auteur, il demanderait à être expliqué.

Passons maintenant à l'étude de l'absorption cutanée chez des Vertébrés aquatiques.

St. J. PRZYLECKI a montré, en 1922, que la peau des grenouilles est perméable à de nombreux sucres et à des produits de dégradation des protéines pendant les huit à douze premières heures. Puis, sur des animaux vivants dont l'anus est bouché et la bouche hors de la solution, il a montré qu'ils absorbaient par la surface extérieure du corps, de nombreux sucres dont certains étaient éliminés sans transformation, tandis que d'autres étaient utilisés et aussi du glycocolle. Il conclut : « Dans ce travail j'ai démontré qu'il y a des animaux aquatiques qui peuvent absorber des corps organiques par la peau. Ces substances absorbées peuvent être déposées dans l'organisme (sucres dans le foie et les muscles) et brûlées en cas de besoin. »

J. KRIZENECKY (1923-24-25) a établi que des têtards pouvaient se développer uniquement aux dépens de substances dissoutes, et il pense que ces substances sont absorbées directement par la surface extérieure du corps.

Comme on le verra plus loin, plusieurs auteurs ont montré que les Poissons pouvaient utiliser des substances en solution. KOSTOMAROV (1926) a observé que les carpes pouvaient utiliser des sucres et diverses autres substances. Elles se développent cependant moins, dit-il, que celles nourries normalement, et G. CHOMKOVIC (1926) a montré que chez divers Poissons, non seulement les branchies absorbent les substances nutritives solubles, mais toute la surface extérieure du corps également.

CONCLUSIONS

La possibilité de l'absorption de matières organiques dissoutes par la surface extérieure du corps nous apparaît maintenant comme un phénomène très général chez les animaux aquatiques, depuis les Protozoaires jusqu'aux Poissons.

Ce phénomène va se préciser si nous examinons, d'une façon très générale, ce qui se passe lors de la nutrition aux dépens de substances solides. Voyons d'abord chez les Protozoaires. La particule solide est englobée et se trouve au sein du protoplasma dans une vacuole, donc isolée de ce dernier. Les modifications qui ont alors lieu dans la vacuole, varient, mais

très peu, avec la nature de la substance englobée. De nombreux auteurs ont étudié la question. LUND (1914) met un Protozoaire en présence de grains de jaune d'œuf durci. La vacuole se forme lors de la pénétration dans le protoplasma. Le liquide qu'elle contient est constitué partiellement du milieu extérieur et en partie d'un acide sécrété par la base de la poche buccale. Après quelques minutes, une portion de ce liquide se résorbe, probablement par imbibition du protoplasma. Puis la digestion du grain commence ; il se liquéfie et, par suite, s'arrondit. Le contenu de la vacuole demeure acide pendant toute la digestion. Le grain a maintenant une apparence liquide par suite de la formation de produits solubles de digestion. Ceux-ci sont lentement résorbés.

LUND fait bien remarquer plus loin que l'absorption des substances dissoutes du milieu extérieur par la surface externe de l'animal a lieu comme l'absorption, par le protoplasma interne, des substances solubilisées de la vacuole.

Dans le tube digestif des animaux qui en possèdent, il ne se passe pas autre chose. L'épithélium n'absorbe que des substances solubilisées par la digestion.

Toute substance nutritive ne pénètre donc dans le protoplasma que si elle est en solution dans le milieu extérieur.

L'absorption de substances dissoutes nous apparaît alors comme un phénomène essentiellement protoplasmique, comme le résultat d'une propriété particulière au protoplasma. C'est la seule forme sous laquelle la nourriture y pénètre réellement. Par conséquent, tout protoplasma en contact avec une solution de ces substances y puise certaines d'entre elles (utiles, neutres ou nuisibles). Le milieu aquatique, dans certaines conditions au moins, constitue tout aussi bien que le milieu interne, cette solution. On admettra facilement que cette absorption est d'autant plus facile que le protoplasma est moins différencié. Mais, ayant constaté qu'elle a lieu par la surface extérieure du corps chez les Batraciens et les Poissons, il semble possible que le protoplasma le plus différencié possède également cette propriété. Avant même d'affirmer qu'il l'a à un degré moindre, des expériences nombreuses et précises sont nécessaires sur ces derniers animaux.

Il est possible qu'il n'y ait qu'une simple différence dans la forme sous laquelle la substance est susceptible d'être absorbée, la désintégration de cette dernière devant être poussée de plus en plus loin (pour arriver aux acides aminés, par exemple, en ce qui concerne les matières albuminoïdes), à mesure que la différenciation du protoplasma s'accroît.

La question serait très intéressante, même en admettant qu'il y ait une faible réduction de l'absorption avec la différenciation.

Après avoir constaté la généralité, chez les animaux aquatiques, de la possibilité de l'absorption de substances organiques dissoutes par la surface extérieure du corps, nous pouvons nous demander si nous ne sommes pas en présence, pour certains, d'un phénomène normal, c'est-à-dire si cette absorption ne joue pas, dans la nature, un rôle indispensable dans les échanges nutritifs. N'apporte-t-elle pas un complément nécessaire à l'absorption intestinale qui a lieu aux dépens des organismes planctoniques ?

C'est une hypothèse qui se pose et qui reste entièrement à résoudre. Pour cela, il faut évaluer quantitativement les besoins totaux d'un animal puis ce qu'il absorbe par voie intestinale aux dépens des organismes planctoniques. S'il y a déficit, c'est que le surplus est absorbé par une autre voie, par la surface externe sous forme de substance dissoute à condition que l'animal trouve dans son milieu, sous cette forme, le surplus qui lui est nécessaire.

On comprend qu'à ceci est une autre question ou, plus exactement, une autre face du même problème.

CHAPITRE IV



La nourriture susceptible d'être introduite dans le tube digestif chez les animaux aquatiques est-elle normalement insuffisante pour couvrir leurs besoins nutritifs ?

Les faits que j'ai constatés me conduisent à poser cette question. Elle a servi, au contraire, de point de départ à A. PÜTTER.

Cet auteur, en 1907, et depuis, partant de la détermination quantitative des besoins nutritifs des animaux marins inférieurs, est arrivé précisément à cette constatation que le carbone absorbé par voie intestinale ne correspondait pas aux besoins totaux en carbone des animaux, qu'il y avait un déficit constant. Il émit alors l'hypothèse de la possibilité d'une absorption de matière organique en solution dans l'eau par la surface extérieure du corps qui apporterait le surplus nécessaire.

Examinons de plus près les travaux de PÜTTER. En 1907, il fait d'abord un certain nombre de constatations. Par l'analyse chimique, il détermine la quantité de carbone dissout dans l'eau de mer, puis le carbone que peuvent fournir les organismes du plancton. Il trouve une différence énorme entre les deux. « A l'état dissout, dit-il, un litre contient 92 mgr. de C., c'est-à-dire 24.000 fois plus de substance carbonée qu'en contiennent les organismes de ce même volume. Si l'on compare seulement la quantité de matières carbonées qui est dissoute sous forme de combinaisons complexes, c'est-à-dire 65 mgr. par litre, on en a encore 17.000 fois plus que dans les organismes. »

Déjà, de la faible quantité de carbone fournie par les organismes, il émet des doutes sur l'idée que ceux-ci sont la seule source de nourriture des Invertébrés marins et il pose l'hypothèse du rôle prépondérant des substances dissoutes.

A cette hypothèse hâtive se présente l'objection suivante : les animaux aquatiques ne sont-ils pas susceptibles d'absorber assez d'organismes pour couvrir leurs besoins en carbone ? Pour y répondre il étudie ces besoins. Il apporte de nouvelles constatations. Il a fait des expériences très complètes sur les échanges nutritifs chez *Suberites domuncula* et *Cucumaria grubei*.

Il a trouvé que, pour un exemplaire moyen de *Suberites* de 60 gr. environ, il faut 0 mgr. 92 de substance carbonée par heure. Si l'éponge ne se nourrissait qu'aux dépens des organismes, d'après les chiffres ci-dessus, elle devrait filtrer 242 litres d'eau, ce qui lui paraît impossible.

En admettant, comme on le fait, qu'une éponge de 60 cm³ filtre 300 cm³ d'eau par heure, elle n'absorberait alors que 1/810 de la quantité de carbone nécessaire, et si l'on constate que le courant n'est pas assez fort pour entraîner tous les organismes du plancton, les Copépodes

par exemple, on trouve que le courant d'eau n'amène qu'une quantité très faible du carbone nécessaire, sous forme d'organismes.

Au contraire, dit PÜTTER, si on admet l'utilisation des combinaisons carbonées dissoutes dans l'eau de mer, les 300 cm³ d'eau filtrée contiennent en substance carbonée plus qu'il n'en faut pour satisfaire les besoins de l'éponge.

Il conclut, en généralisant, que pour toutes les éponges il en est de même : la nourriture figurée n'a pas une part appréciable dans la nourriture générale et que ces animaux sont réduits à se procurer une nourriture dissoute, qu'ils trouvent en abondance dans l'eau de mer.

Avec *Cucumaria grubei*, qui a besoin de 0 mgr. 40 de substance carbonée pour un poids de 14 grammes, il est difficile de tirer une conclusion aussi nette car il est difficile de calculer la quantité de substances nutritives que l'animal absorbe avec le sable et la vase qui remplissent son tube digestif.

Puis, suivant une autre voie, il détermine la quantité minima de carbone nécessaire à un animal d'après sa consommation d'oxygène. Il arrive ainsi à déterminer approximativement la quantité minima de substance carbonée transformée par heure. Là encore ses calculs lui montrent que les animaux considérés devraient filtrer une quantité trop considérable d'eau s'ils ne s'alimentaient que d'organismes planctoniques, tandis qu'ils trouvent plus qu'il leur est nécessaire de substance carbonée dans ce même volume d'eau sous forme dissoute.

Un des grands arguments de PÜTTER, c'est que les Invertébrés étudiés devraient filtrer une quantité d'eau extrêmement grande pour subvenir à leurs besoins en se contentant d'organismes planctoniques. Or, dit-il, il ne semble pas possible que ces animaux puissent filtrer une pareille quantité d'eau. Cette question demande cependant à être étudiée de plus près, et c'est ce qu'il fait, non pas par la méthode biologique, mais toujours par la méthode physiologique.

Il calcule le volume d'eau nécessaire par heure à un animal, par la quantité minima d'O qui lui est utile pendant ce temps et la quantité d'O de l'eau de mer. Il trouve ainsi que ce volume d'eau est relativement faible, une et deux fois le volume de l'animal, deux ou trois fois pour *Tethys*, puis 85 fois pour *Suberites*. *Collozoum* paraît un cas exceptionnel et demande 144 fois son volume d'eau. Même dans ce faible volume les animaux peuvent trouver toute la substance carbonée, sous forme dissoute, qui est nécessaire à leurs besoins nutritifs.

PÜTTER étudie ensuite la nourriture figurée des animaux. Là il pose clairement le problème à résoudre et qui est l'hypothèse à laquelle on arrive à la suite de mes observations. « Tant que la quantité de nourriture figurée (organismes planctoniques) absorbée, d'une part, et le besoin d'aliments dans l'unité de temps, d'autre part, n'auront pas été déterminés, on ne pourra répondre qu'avec plus ou moins de vraisemblance à la question de savoir si la nourriture figurée suffit à couvrir les besoins nutritifs totaux. » C'est en effet cette détermination seule qui permettra de dire si les animaux couvrent normalement une partie de leurs besoins par une absorption autre que celle des organismes planctoniques.

Dans ce domaine, il cite les observations de divers auteurs sur des animaux de groupes variés. BURGER (1) dit, par exemple, qu'on rencontre rarement dans l'intestin des Némertes des masses de nourriture, ni des restes de nourriture, quelquefois seulement il a rencontré des fragments de Crustacés. D'autres auteurs ont fait la même observation.

Celles de DOHRN (2) sont plus caractéristiques. A l'intérieur de l'intestin des Pycnogo-

(1) BURGER : Nemertinen in : *Fauna und Flora des Golfes von Neapel*, Bd 22, 1895.

(2) DOHRN : Pantopoden in : *Fauna und Flora des Golfes von Neapel*, Bd 3, 1881.

nides (Pantopodes), qui envoie de longs diverticules dans les extrémités, nagent un grand nombre de corps particuliers qui ne proviennent pas de l'extérieur, mais procèdent de l'épithélium de l'intestin et ceci d'une façon inexplicable. Par la contraction du tuyau intestinal ils sont maintenus continuellement en des mouvements irréguliers. On lit, page 57 : « Mais ce qui rend ces conditions absolument incompréhensibles, c'est l'absence de toute matière fécale. Malgré mille observations de Pycnogonides vivants, faites sous le microscope, je n'ai jamais remarqué la sortie de parcelles figurées par l'anus. »

Enfin il cite les observations de SIMROTH (1) sur les Mollusques (Amphineures, Néoménides, Polyplacophores, Scaphopodes), et celles de RAUSCHENPLAT (2) chez divers Invertébrés marins qui n'ont pas trouvé de restes appréciables dans leurs intestins.

Etant donné que la constatation de la quantité d'organismes dans le tube digestif des animaux aquatiques est un point essentiel dans la question qui nous préoccupe, il ne me semble pas que les travaux cités soient suffisants et je crois qu'il y a des observations systématiques à entreprendre à ce sujet. Les recherches de SAVAGE (1925) sur la nourriture de l'Huitre, pourraient servir de modèle.

En ce qui concerne les animaux des grands fonds, dit PÜTTER, dans un chapitre spécial, on ne peut admettre que les organismes morts et tombant sur le fond puissent leur servir de nourriture, car étant donnée la faible vitesse avec laquelle ils sont entraînés, par suite des courants, leur substance serait utilisée par les bactéries bien avant d'atteindre les fonds de 3.000 à 6.000 mètres.

Au contraire, ces animaux trouvent dans leur milieu, toute la substance dissoute qui leur est nécessaire.

A ce propos, il est juste de rappeler que, déjà, en 1874, W. THOMSON faisait les observations suivantes : « Il paraît n'y avoir, au fond de la mer, que peu ou point de lumière, et il n'y existe bien certainement d'autres végétaux que ceux qui y tombent de la surface ; et pourtant les animaux abondent partout dans le fond de la mer. Au premier abord, il est certainement difficile de comprendre comment se soutient la vie de cette vaste multitude animale, privée, selon toute apparence, de tout moyen de subsister... Toute eau de mer contient une certaine quantité de matières organiques en solution et en suspension. » Il suppose que cette matière organique peut provenir de la décomposition des animaux et des plantes. Puis il conclut : « il est parfaitement compréhensible qu'une foule d'animaux puisse subsister dans ces sombres abîmes ; mais il est nécessaire qu'ils appartiennent surtout à des espèces susceptibles de se nourrir par l'absorption, au travers des membranes de leur corps, des matières en dissolution. »

Etant admis, d'une part, que pour les animaux aquatiques les organismes planctoniques ne constituent pas la seule source de nourriture et que, d'autre part, il y a dans l'eau, à l'état dissous, de la matière organique en quantité largement suffisante pour satisfaire leurs besoins, on peut se demander par quelle voie se fait l'absorption de cette matière dissoute.

PÜTTER signale qu'un organe spécial n'est pas indispensable. La possibilité d'absorber des substances dissoutes est, dit-il, un phénomène très général. Les cellules des Mammifères prennent leur nourriture dans les liquides corporels environnants. Les Protozoaires et les Bactéries prennent leurs aliments dans le milieu extérieur. C'est de cette manière qu'un grand nombre d'autres animaux prennent la plupart de leur nourriture. La mer forme, pour ces sortes d'animaux, la lymphe dont ils vivent.

(1) SIMROTH : Mollusca in Bronn's Klassen und Ordnungen, 1892-94.

(2) RAUSCHENPLAT : Ueber die Nahrung von Tieren aus der Kieler Bucht ; Wiss. Meer. Bd 5, 1901.

D'autre part, il faut se libérer de l'idée que l'absorption de l'O diffère de celle des autres substances dissoutes et les branchies des animaux aquatiques qui prennent l'O dans l'eau ne font qu'absorber une substance dissoute particulière, et rien ne s'oppose à l'idée qu'elles peuvent en absorber d'autres de nature différente. Les surfaces susceptibles d'accomplir cette absorption ne doivent pas être recouvertes d'une carapace calcaire, de couches de chitine, de parois de cellulose, etc. Chez les animaux qui présentent ces particularités, on doit s'attendre à trouver des dispositions spéciales, tandis que chez les autres, où les cellules superficielles ne présentent aucune différenciation particulière, l'absorption peut avoir lieu par toute la surface du corps.

Chez certains Invertébrés, l'intestin joue, sans aucun doute, un rôle important dans l'absorption de matières dissoutes, car il y passe beaucoup d'eau : *Alcyonium*, Rhizostomes, etc. Chez les Polyclades (LANG) et les *Capitella* (EISIG), l'intestin a été considéré par ces auteurs comme un organe respiratoire par suite de la grande quantité d'eau qui y passe. En même temps que l'O doivent être absorbées d'autres substances dissoutes.

Mais ce sont les branchies qui présentent d'excellentes conditions pour l'absorption de substances dissoutes. Il montre que le besoin en O d'un animal n'est pas en rapport avec le développement des branchies en comparant, entre autres, un Rhizostome et une Salpe.

Il conclut que si l'on considère les branchies et organes analogues comme des organes d'absorption de substances dissoutes, on comprend comment un grand nombre d'animaux arrivent à satisfaire leurs besoins nutritifs si élevés.

PÜTTER ne nie pas le rôle que jouent les organismes planctoniques dans la nutrition : « Nous n'avons pas le droit d'enlever à la nourriture figurée qu'absorbent les animaux, dont il a été question plus haut, son importance physiologique. »

Pour montrer que la nourriture figurée joue un rôle peu important dans les échanges chez des Invertébrés, il faudrait en faire l'élevage en excluant toute nourriture figurée. Ce rôle se ramène sans doute à l'absorption de substances particulières qui ne se présentent pas autrement ou en faible quantité. En tout cas, d'après l'auteur, l'essentiel de l'absorption aurait lieu autrement que par l'intestin et surtout autrement que par la nourriture figurée. Pour lui, l'intestin des Invertébrés jouerait aussi un rôle de sécrétion.

Nous sommes donc arrivés à l'idée principale de PÜTTER : les substances en solution dans l'eau constituent la source essentielle des besoins nutritifs des Invertébrés marins, ces substances étant absorbées quelquefois par l'intestin mais, en général, par la surface du corps et plus particulièrement par les branchies. Les organismes planctoniques qui passent dans l'intestin ne jouent qu'un rôle secondaire dans la nutrition.

Evidemment, cela pose le problème suivant : Est-ce que les Invertébrés sont capables de vivre uniquement aux dépens de substances en solution ? PÜTTER y répond en rappelant que les cellules isolées d'organismes pluricellulaires s'alimentent aux dépens de substances dissoutes et que, à l'exception des cellules intestinales de quelques Invertébrés inférieurs, chez presque tous les Métazoaires la faculté d'absorber de la nourriture figurée est perdue. Les cellules des tissus prennent leur nourriture des substances alimentaires dissoutes dans les liquides du corps. Enfin, beaucoup de parasites ne se nourrissent que de substances dissoutes dans les liquides de l'hôte. Il compare le liquide de celui-ci à la mer qui, pour bien des animaux dit-il, constitue une solution de nourriture où ils puisent pour leurs besoins.

Aux observations précédentes, PÜTTER aurait pu ajouter celles déjà anciennes de MERZKOWSKI (1879) sur les Méduses et les Eponges, qui avait émis pour les anomalies qu'il signale, l'hypothèse d'une seule nutrition par absorption au niveau de la surface extérieure du corps,

de substances dissoutes dans l'eau. Voici ce qu'il disait (d'après A. DE VARENNE) (1) : « On trouve des individus (de *Bougainvillea paradoxa*) qui n'ont absolument pas de manubrium. Il n'y a pas atrophie mais bien privation. Le système gastro-vasculaire consiste seulement en un canal circulaire et en quatre canaux rayonnants qui se réunissent au sommet sans former rien qui ressemble à un estomac. Ce système gastro-vasculaire est dépourvu de communication avec l'extérieur. Le fait est étrange parce que ces anomalies ont été observées plus souvent chez des Méduses qui sont aussi grosses que les individus adultes et normaux. Elles doivent par conséquent avoir été capables de croître et de se nourrir elles-mêmes, puisque, d'embryons microscopiques qu'elles étaient, elles ont atteint une grosseur de plus de un demi-centimètre.

Chez une autre petite Méduse, un peu différente de la précédente, j'ai rencontré, quoique moins fréquemment, des individus sans manubrium ni orifice buccal...

On peut donc prouver que, au moins dans deux espèces différentes, la Méduse peut vivre, s'accroître et se développer sans avoir besoin d'organe de la digestion, et aussi en apparence sans se nourrir, puisque les éléments nutritifs ne peuvent pénétrer dans l'intérieur du système gastro-vasculaire.

En cherchant toutes les façons dont cette nutrition peut s'opérer, je puis seulement m'appuyer sur une hypothèse qui me paraît seule probable. Nous sommes amenés, par ces faits, à admettre que la Méduse peut se nourrir au moyen de son ectoderme en absorbant les substances organiques dissoutes dans l'eau de mer.

Cette supposition est la plus probable, puisque, comme je l'ai démontré dans le cas des Eponges, celles-ci, dans certains cas, se nourrissent aussi de la matière organique dissoute dans l'eau de mer et aussi au moyen de leur ectoderme.

Le nombre comparativement grand des anomalies de cette espèce que l'on peut observer prouve qu'il n'est en aucune façon impossible, ni même difficile pour une Méduse de se passer de son entoderme pour vivre et atteindre son état normal, absolument comme cela a lieu pour certaines Eponges.

Nous pouvons donc conclure que, dans certains cas au moins, l'ectoderme peut remplir la fonction de l'entoderme, c'est-à-dire qu'il peut aussi bien que ce dernier extraire et assimiler les matières organiques dissoutes dans l'eau. Il ne peut être mis en doute que nous ayons réellement affaire à des matières organiques dissoutes dans l'eau, et que ce ne soit pas sous forme de particules solides que la nourriture est absorbée ; car l'examen de la surface de la Méduse prouve que jamais elle ne contient aucune particule solide. Nous avons ainsi deux cas de ce mode de nutrition presque complètement prouvés dans la classe des Eponges et dans celle des Hydroméduses. »

On peut voir par là aussi que l'hypothèse d'une telle nutrition dans certains cas a été envisagée depuis fort longtemps déjà.

Dans un dernier paragraphe, PÜTTER indique les diverses voies à suivre pour montrer qu'un animal utilise les substances dissoutes comme nourriture.

En 1909, il entreprend des expériences directes sur quelques Poissons qu'il élève en aquarium. Il trouve qu'ils vivent plus longtemps dans des solutions nutritives que dans de l'eau pure. D'autre part, il mesure leur consommation totale en O, puis leur perte de poids. De leur composition chimique, il déduit la quantité d'O qui a servi à oxyder la partie perdue. Il trouve une différence entre ces deux quantités. Il en conclut qu'une partie a été utilisée à

(1) *Archives de Zool. exp.*, 8, 1879-80, p. xlii.

oxyder les aliments non figurés absorbés par l'animal. L'absorption des substances dissoutes se ferait par les branchies en même temps que l'O.

En 1911, il montre qu'en ajoutant des substances nutritives dissoutes dans de l'eau où vivent des Actinies, ces substances diminuent progressivement dans l'eau. Il en conclut qu'elles ont été absorbées.

En 1924, il étudie la nutrition des Copépodes. Reprenant les considérations de son premier travail et d'autres, il arrive à l'idée que les Copépodes vivent aux dépens des substances en solution dans l'eau. Il le prouve directement en faisant vivre des Copépodes dans des solutions étendues de glucose. Par le calcul, il montre que l'absorption de ces matières ne peut se faire par l'intestin, car la quantité d'eau qui devrait passer par celui-ci serait trop grande. Cette absorption peut au contraire se faire par la surface extérieure du corps comme pour l'oxygène. Il appuie cette idée de l'absorption à travers la paroi chitineuse sur les observations de MUNRO FOX (1), sur des larves de chironomes. Ce dernier a montré en effet qu'une larve de chironome respire par toute la surface extérieure du corps. Quant au rôle de l'intestin, il pense que les algues qui y pénètrent ne peuvent couvrir que 2 à 3 pour 100 des besoins d'aliments et servent peut-être à apporter des vitamines.

Etant donnée l'hypothèse à laquelle est arrivé PÜTTER, il lui faut absolument montrer que les animaux aquatiques peuvent vivre, se développer et reproduire uniquement en présence de substances dissoutes. Ceci est difficile, dit-il, à réaliser expérimentalement.

Les travaux de LUND (1914), PETERS (1920 et 1921), et LWOFF (1923), qui ont obtenu des cultures de Protozoaires dans des milieux ne contenant que des substances dissoutes, ceux de KNÖRRICH sur *Daphnia* (1901) et M. WOLFF sur *Semocephalus* (1909) qui ont montré l'utilisation par ces animaux de substances dissoutes, et surtout les travaux de J. KRIZENECKY (1923-24-25), PODHRADSKY (1924-25), sur le développement constaté de têtards vivant uniquement dans des solutions nutritives viennent nettement à l'appui de l'idée de PÜTTER, de même que les expériences déjà signalées de MITCHELL (1917) sur les Huîtres.

Il faut noter cependant que OEHLER (1919), sur les Protozoaires, LIPSCHUTZ (1910) sur les Poissons et KERB (1911) sur les Daphnies, larves de *Corethra* et Poisson, ont obtenu des résultats négatifs.

Une partie de mes observations, celles de CHURCHILL et celles de PRZYLECKI qui montrent d'une façon très nette la possibilité pour certains animaux d'absorber des substances organiques dissoutes variées par la surface extérieure de leur corps ne prouvent pas du tout que ces animaux puissent couvrir tous leurs besoins par cette voie.

Quant aux faits naturels, dont j'ai établi le déterminisme, ils apportent un appui certain aux idées de PÜTTER. J'ai constaté d'une façon indiscutable l'absorption, par la surface extérieure du corps de beaucoup d'Invertébrés, surtout au niveau des branchies, de matière organique en solution dans l'eau et sécrétée par les Diatomées, puis l'utilisation de cette matière organique chez les Copépodes. C'est là je crois un des meilleurs apports aux théories de PÜTTER. Mais dans l'intérêt même de la recherche, nous ne devons pas tirer de ces observations des conclusions auxquelles elles ne conduisent pas. Nous devons nous en servir comme stimulant pour poursuivre les recherches commencées, mais nous devons reconnaître qu'elles ne prouvent pas du tout que les animaux étudiés se nourrissent uniquement de cette façon et que les organismes planctoniques pénétrant dans l'intestin ne jouent aucun rôle dans la nutrition, en particulier chez les Mollusques Lamellibranches et Gastéropodes.

(1) MUNRO FOX, *The journal of Gén. physiol.*, vol. III, 1921, p. 565.

Nous sommes tout d'abord ramenés à la question de la quantité de matière organique dissoute dans l'eau. Or, les chiffres donnés par PÜTTER ont été fortement discutés. PETERSEN et JENSEN (1911) en trouvent bien des quantités appréciables, mais lui donnent une origine différente. HENZE (1908), faisant ses analyses au même endroit que PÜTTER ne trouve que des quantités insignifiantes de matière organique dissoute, de même MOORE, EDIE et WHITLEY (1914). Quant à GAARDER et H. GRAN (1927) qui appuient fortement l'idée de PÜTTER sur l'origine de la matière organique dissoute, ils n'en disent pas moins que, au sujet de la quantité de matière organique dissoute dans l'eau, des recherches sont à entreprendre et surtout avec une autre méthode que celle au permanganate.

PRZYLECKI termine son travail de 1922 ainsi : « Mais c'est une toute autre question de savoir si les animaux ayant la possibilité potentielle de se nourrir à l'aide de l'absorption cutanée, trouvent réellement dans des conditions normales de leur vie des solutions suffisamment concentrées pour être la source de la nutrition. C'est une question intéressante au point de vue pratique, qui n'est pourtant pas tranchée dans ce travail. Pour la résoudre il faudrait analyser les liquides dans lesquels vivent les animaux en état de nature. »

Ce qu'il y a de plus important encore, c'est que, sur la base même du problème, c'est-à-dire sur les besoins totaux de l'animal et sur la quantité d'organismes planctoniques susceptibles de pénétrer dans l'intestin, les valeurs données par PÜTTER ont été critiquées. Cependant, comme je l'ai déjà fait remarquer, c'est là l'essentiel. C'est là qu'il faudra toujours revenir et sur ce point précis se mettre d'accord.

Je ne veux pas mésestimer l'importance des faits que j'apporte ni de ceux des différents auteurs cités, mais ils ne doivent absolument pas servir à présenter comme définitives des évaluations discutées.

C'est ainsi que MOORE, WHITLEY, EDIE et DAKIN, séparément ou en collaboration, ont montré que les valeurs données par PÜTTER pour les besoins nutritifs, en partant de la détermination de l'O nécessaire, sont trop élevées. Ils apportent d'ailleurs des observations très particulières sur le métabolisme nutritif.

Pour DAKIN, il est possible qu'il y ait absorption de petites quantités de substances dissoutes et que certains animaux (Protozoaires) puissent vivre uniquement d'elles; mais, en général, celles-ci ne jouent qu'un rôle accessoire dans la nutrition. Il insiste sur le fait que tous les animaux aquatiques ne doivent pas être réunis en un seul groupe pour ce qui concerne la nutrition.

Au sujet de la quantité d'organismes planctoniques susceptibles d'être captés, H. LOHMAN (1909) pense qu'ils sont souvent beaucoup plus abondants que dans les exemples pris par PÜTTER. Il pense aussi que les détritiques organiques interviennent dans l'alimentation. BLEGVAD H. (1914) attire également l'attention sur le rôle des détritiques dans l'alimentation des animaux de fond.

LWOFF conclut ainsi : « Il semble donc bien que, quoique dans les conditions naturelles, la nutrition des Infusoires libres soit purement phagocytaire, on puisse, en leur fournissant un milieu convenable, arriver à nourrir certains d'entre eux de substances dissoutes. »

En ce qui concerne particulièrement les Huitres, je dois signaler que tous les auteurs connaissant les théories de PÜTTER, qui ont étudié d'une façon précise leur contenu stomacal et intestinal, sont d'accord pour affirmer que, s'il y a absorption de matière organique dissoute, dans la nature, c'est certainement le plancton et le benthon qui jouent le rôle essentiel dans leur nutrition. CHURCHILL, lui-même, qui ainsi qu'on l'a vu, a montré d'une façon si nette la

possibilité de l'absorption de matière organique par la surface extérieure du corps chez les Lamellibranches d'eau douce, est de cet avis.

Sur ce problème essentiel des besoins totaux et de la quantité d'organismes planctoniques susceptibles d'être absorbés, qui est posé par l'hypothèse à laquelle on arrive à la suite de l'examen des faits dont j'ai établi le déterminisme, je n'apporte aucune observation personnelle. Je n'ai fait que rapporter les opinions contradictoires qui ont été émises, et isolé nettement les diverses questions qui se posent et qui doivent être résolues séparément si l'on veut pas, dans l'intérêt de la recherche, que les certitudes que l'on possède sur les unes nous conduisent à admettre comme définitives les approximations discutées sur les autres.

Il était nécessaire, malgré tout, que je rappelle ce que l'on sait sur une hypothèse de cette importance.

CHAPITRE V



Sur quelques pigments.

La question des pigments peut paraître, au premier abord, quelque peu éloignée de mon sujet. Cependant on a pu voir que de nombreux cas de pigmentation accompagnaient l'absorption de certaines substances par la surface extérieure du corps. Voilà des pigments dont on ne peut nier l'origine externe. Examinons-les de plus près et nous allons voir que les faits que j'ai rapportés soulèvent un problème extrêmement intéressant sur ce chapitre si vaste et si complexe des Pigments.

a) Absorption de matière organique d'origine végétale

Un pigment accompagne souvent cette matière organique qui lui sert de support. Il est absorbé en même temps qu'elle. Quelquefois le pigment est entraîné aussitôt ou presque avec la matière organique dans le courant sanguin, quelquefois la matière organique seule est entraînée et le pigment reste fixé au protoplasma. Dans le premier cas, la pigmentation est passagère, dans le second elle est durable.

On a vu combien sont nombreux les animaux qui se pigmentent en vert par ce processus aux dépens du pigment sécrété par le *Navicula Ostrearia* Bory.

En dehors des Mollusques Lamellibranches et Gastéropodes dont les branchies, le manteau, les siphons et le pied se colorent en vert, nous avons signalé des Protozoaires, une Actinie, l'*Astérias rubens* (pieds ambulacraires), un Turbellarié polyclade, des Annélides (toute la surface extérieure), enfin les Copépodes (hypoderme et œufs) et peut-être aussi les *Carcinus maenas* (hypoderme).

Les Copépodes sont particulièrement intéressants parce qu'on peut suivre l'évolution du pigment au cours du développement de l'œuf. Ils nous ont d'ailleurs présenté d'autres faits dont l'importance n'a pas besoin d'être soulignée. Nous avons vu que, dans une culture vivace de *Pleurosigma* ils absorbaient la matière organique brune sécrétée par cette autre Diatomée et que leur hypoderme et surtout leurs œufs, devenaient bruns. Là encore on peut suivre l'évolution de ce pigment dans l'œuf. Si nous rapprochons ces observations de celles de A. Lwoff (1925) sur le pigment oculaire d'un Copépode, *Idya furcata*, l'origine de ce dernier se précise. L'œil est sans aucun doute pigmenté par une carotène d'origine externe et végétale.

La carotène libérée de son complexe albuminoïde se fixe sur l'œil par suite, très probablement, de la nature chimique particulière de ce dernier.

Et nous pouvons aller plus loin, si nous examinons la note de Ed. CHATTON, A. LWOFF et M. PARAT (1926) sur l'origine, la nature et l'évolution du pigment de *Spirophrya*... Ils ont remarqué que les Infusoires subparasites des Crustacés sont presque toujours colorés en rose, violet, vert ou bleu. En particulier chez *Spirophrya*, le pigment ne serait pas synthétique. Lorsque l'œil d'*Idya furcata* qui est coloré par une carotène est altéré, le pigment se libère et est absorbé par les Infusoires ou bien se combine aux protéiques du corps du Copépode et est ingéré ensuite par les *Spirophrya*.

Même si le processus est bien celui que décrivent ces auteurs, on voit que le pigment de ces Infusoires est toujours d'origine végétale. Mais, le verdissement des Protozoaires parasites des Copépodes vivant sur un fond de *Navicula Ostrearia* Bory nous montre que la pigmentation de ces Protozoaires peut être aussi le résultat de l'absorption directe de matière organique pigmentée provenant des Diatomées.

Dans les observations de ces auteurs, tous les facteurs n'ont pas été isolés, on ne se trouve donc pas devant une certitude, mais seulement devant une possibilité. Le déterminisme précis n'est pas établi. Ce sont des observations fragmentaires.

L'évolution du pigment dans l'œuf du Copépode telle que je l'ai exposée est la même dans l'œuf de *Clava squamata*, où Georges TEISSIER (1924-25) l'a étudiée. Les ovules sont noir-gris opaque ; la couleur ne change que dans la planula qui est orangé vif. « La lipochromalbumine, mise en charge dans l'oocyte en voie de développement est une réserve qui se trouve utilisée au cours de l'ontogénèse. Elle se scinde alors en deux parties, l'une incolore, qui est la partie purement albuminoïde, constitue la portion véritablement utile de la réserve et entre dans le métabolisme de l'embryon, l'autre colorée, la zooérythrine, semble rester inutilisée et se retrouve en grains dans les cellules dont les réserves ont disparu : c'est un véritable *excretum*. »

« Le pigment noir-gris n'est pas figuré et imprègne uniformément les balles vitellines qui remplissent l'œuf et les jeunes embryons. Il disparaît avec celles-ci et est remplacé peu à peu par le pigment orange qui se présente, au contraire, en grains individualisés, disséminés irrégulièrement entre les balles vitellines encore intactes et qui finit par exister seul, donnant à la planula sa couleur définitive. »

D'après Georges TEISSIER, « ce pigment orange présente les caractères des carotinoïdes, végétaux et n'est qu'un mélange, en proportions variables, d'un certain nombre de ces derniers. L'élément principal, carotène, chez les Décapodes, est peut-être une xanthophylle chez *Clava* ».

On comprend l'importance que prendraient ces observations si l'origine précise du pigment noir de l'œuf de *Clava* était déterminée. L'auteur considère la formation des lipochromalbumines comme un mode d'excrétion des lipochromes. En réalité, une simple affinité (dissolution ou combinaison) sans finalité les unit. Il ne dit rien sur l'origine précise de ces lipochromes. En comparant avec les Copépodes nous pouvons émettre l'hypothèse, qui servira à de nouvelles recherches, qu'ils sont d'origine externe et végétale, qu'ils résultent de l'absorption de matière organique pigmentée provenant des algues (Diatomées ou autres). Ici encore, comme pour les œufs des Copépodes, on n'est pas étonné de trouver le pigment lié à un albuminoïde dans l'œuf. Si la substance absorbée n'en est pas un, le pigment a pu se fixer secondairement sur les albumines du corps lors de l'utilisation de celle-ci et les suivre dans l'œuf.

Sans même tenir compte de ces dernières hypothèses, nous sommes conduits à attirer

l'attention sur l'importance des Diatomées qui doivent être l'origine de bien des pigments, ceux-ci pouvant pénétrer dans le milieu intérieur de l'animal et être excrétés à divers niveaux ou bien rester fixés à l'épithélium externe lorsque l'absorption a lieu par cette voie.

Ce dernier mécanisme de pigmentation n'avait pas encore été envisagé. Je crois qu'il y a là une nouvelle voie féconde pour des recherches ultérieures. Les Poissons seraient tout spécialement à étudier. Les découvertes dans cette direction ne feront qu'augmenter, sans aucun doute, le nombre des pigments d'origine exogène que nous connaissons.

J'ai eu l'occasion, d'autre part, de citer la coloration rouge violacé des Huitres, due à l'absorption d'un pigment provenant d'une Floridée, *Rytiphlaea*.

L'origine végétale des pigments considérés n'apparaît plus alors comme une vague hypothèse, mais comme une réalité. Les observations sur les animaux seuls ne sont pas complètes. Elles ne conduisent qu'à des hypothèses qu'il faudra vérifier expérimentalement et, en définitive, il faudra bien arriver à étudier simultanément les Algues. C'est ce que fait immédiatement le biologiste désireux d'établir le déterminisme des faits qu'il observe.

D'ailleurs, d'une façon très générale, les rapports des animaux aquatiques avec les Algues sont si variés et si intimes qu'il est nécessaire au biologiste animé de l'esprit dynamique de les étudier simultanément. Les Diatomées, tout particulièrement, réservent des surprises.

En ce qui concerne les pigments des animaux aquatiques, l'étude biologique des algues et surtout des Diatomées s'impose. Les observations fragmentaires que l'on trouve un peu partout sur ce sujet se compléteront alors, et le déterminisme précis de la pigmentation sera établi dans chaque cas.

Jusqu'à ces dernières années, l'étude statique des pigments n'avait abouti qu'à des hypothèses sur lesquelles on revenait sans cesse. Seule l'origine nutritive de quelques-uns était définitivement acquise.

L'étude dynamique entreprise récemment a apporté déjà des faits précis qui éclairent un peu ce chapitre si obscur de la Biologie. Cette méthode a montré tout de suite sa supériorité.

C'est J. VERNE qui établit l'origine chlorophyllienne de l'hémoglobine chez les Daphnies et qui pose, comme nouvelle et belle hypothèse de travail, la généralisation de ce fait qui trouve une première confirmation dans les expériences de Marguerite COMAS, qui montre, presque définitivement, que l'hémoglobine des larves de Chironomes a la même origine. Les expériences que j'ai faites moi-même sur ces larves confirment le fait.

Enfin ABELOOS et FISCHER établissent d'une façon parfaite que les pigments du *Carcinus maenas*, même ceux de la carapace, en partie tout au moins, ont une origine alimentaire.

Examinons maintenant le pigment brun des Huitres déposées dans les réserves des marais salants ou « jas ». J'ai dit qu'il résultait de l'absorption par la surface extérieure du corps, surtout par les branchies, d'une matière organique provenant de la décomposition des feuilles et gaines de plantes aquatiques, les *Ruppia maritima* L, en particulier. Le pigment brun de cette matière organique n'est autre chose que de la chlorophylle modifiée. La présence de pigment brun-noirâtre chez beaucoup de Crustacés et aussi d'autres Invertébrés aquatiques qui vivent dans ce milieu, laisse supposer une même origine.

Ce fait nous entraîne à examiner les animaux dans les étangs d'eau douce. On sait que, dans ces étangs, des quantités importantes de plantes aquatiques, débris, etc... se décomposent et on connaît bien la matière organique brune ou noirâtre qui en résulte. On peut se demander si ce n'est pas l'origine du pigment noir-brun des animaux qui vivent dans ces eaux. Il y a là une hypothèse de travail que, à mon avis, les faits viendront confirmer. L'absorption

par la surface extérieure du corps avec fixation du pigment dans l'épithélium devra être examinée de très près.

b) Absorption des sels de fer

On a vu que l'absorption directe des sels de fer entraînait des pigmentations variées des Huitres. On en trouve des brunes, des bleu-vert et des roses. Le même phénomène a lieu chez divers Lamellibranches comme *Venus verrucosa* et *Venus mercenaria*.

Chez tous ces Mollusques, j'ai remarqué que la coquille elle-même possédait souvent une coloration en rapport avec la présence de certains sels de fer. Je suis même arrivé à cette hypothèse que les bandes violacées de la coquille de l'Huitre résultent de la présence, à ce niveau, d'un composé organique de fer. Il serait intéressant de savoir comment le sel de fer arrive au tissu sécréteur ; on aurait peut-être alors en même temps l'explication de sa disposition en bandes dans la coquille.

Les colorations dues aux sels de fer présents dans les argiles sont peut-être plus fréquentes qu'on ne le croit. C'est ainsi que beaucoup des pigments (sinon tous) des Cériantes proviennent, très probablement, de sels de fer absorbés et entrés dans une combinaison organique. Des recherches systématiques seraient à entreprendre, et le déterminisme des autres pigmentations dues au fer à établir.

Si, comme je l'ai montré en partant de l'absorption par la surface extérieure du corps, on arrive à expliquer bien des phénomènes de pigmentation cutanée et ainsi à augmenter le nombre des pigments d'origine externe, on explique par là même bien des cas d'homochromie fixe. Le finalisme perdra encore du terrain dans ce domaine.

Je ne me suis pas attardé sur cette question des Pigments. Je me suis contenté de rappeler les cas que j'ai observés et dont j'ai établi le déterminisme. Ce sont des faits acquis. Ensuite j'ai émis un certain nombre d'hypothèses qui serviront pour de nouvelles recherches.

DEUXIÈME PARTIE

a) Le passage de la substance absorbée à travers le protoplasma épithélial.

L'amœbocyte

Dans la première partie, j'ai montré que les animaux aquatiques pouvaient absorber des substances organiques en solution dans l'eau, par la surface extérieure de leur corps, et j'ai établi que certains d'entre eux en absorbaient effectivement par cette voie, dans la nature. J'ai noté, en passant, que certaines pigmentations ont cette origine, aux dépens de pigments végétaux ou de sels de fer.

Pour établir qu'il y avait bien pénétration de la matière organique dans les tissus de l'animal, j'ai signalé simultanément, mais rapidement, sous quelle forme elle se trouvait dans le protoplasma épithélial, et parfois aussi dans le sang. Je n'ai jamais noté qu'elle passait directement dans ce dernier sans modification au contact du protoplasma épithélial qu'elle traverse. Nous avons vu au contraire qu'elle s'y présentait toujours dans des granulations.

Je vais examiner maintenant, tout particulièrement, ce qui se passe lors de la pénétration de la matière organique dans l'épithélium. Nous nous demanderons, après cet examen, par quel phénomène elle y pénètre et le traverse.

Nous avons vu, d'après CARAZZI pour le pigment vert de l'Huitre et CHURCHILL pour diverses matières organiques absorbées par les branchies des Moules d'eau douce, que les leucocytes du sang viendraient les prendre au niveau de l'épithélium, soit à son contact, soit en y pénétrant, et les transporteraient par le milieu intérieur au niveau des autres tissus. Nous ne pouvons plus nous contenter actuellement de cette explication. Elle ne repose que sur une conception finaliste du rôle du leucocyte, et c'est pourquoi elle paraît simple. Si on cherche à lui donner une base scientifique physico-chimique, de grosses difficultés surgissent. Nous voulons savoir comment le leucocyte pénètre dans l'épithélium, puis comment il en sort. Si des faits contredisent cette explication, il faudra y renoncer.

Ainsi, après avoir étudié certains côtés de la réaction protoplasma-matière organique, nous chercherons comment le produit résultant qui se présente sous forme de granulations passe dans le sang.

Nous allons expérimenter, constater et comparer. Dans ce domaine on ne peut prétendre établir le déterminisme précis des faits que l'on observe parce qu'on connaît peu de chose. C'est surtout à essayer d'isoler les facteurs que nous devons prétendre.

Avant de commencer cette étude, je dois revenir sur une opinion que j'ai avancée au sujet de l'oxygène et même de l'eau douce.

Après PÜTTER, j'ai dit qu'on devait considérer l'oxygène de l'eau comme une simple substance en solution absorbée par les animaux aquatiques. PÜTTER avait émis l'hypothèse, comme on l'a vu, que la substance organique en solution dans l'eau devrait être absorbée par la surface extérieure du corps des animaux, mais plus particulièrement au niveau des organes qui absorbent l'oxygène. Lorsque j'ai montré des cas précis, dans la nature, d'absorption de

matière organique en solution, j'ai attiré l'attention sur le fait que celle-ci avait bien lieu tout particulièrement au niveau des branchies, des palpes et du manteau. De là à conclure que le phénomène est exactement le même pour les matières organiques et pour l'oxygène, il n'y a qu'un pas. Voyons donc si l'oxygène ne laisse pas de trace, lui aussi, de son passage dans le protoplasma épithélial. Le même problème se posera ensuite pour l'eau.

1° *Absorption de l'oxygène* (respiration). — C'est dans les branchies de l'Huitre que je l'ai étudiée. Pour être absolument précis, il faudrait examiner un épithélium branchial qui n'aurait pas absorbé d'O, au moins depuis quelque temps, et le comparer avec lui-même après avoir mis l'animal en contact avec un milieu oxygéné. Mais, c'est là une expérience qui semble impossible à réaliser, d'autant plus que d'autres facteurs pourraient intervenir dont on ne peut être maître. Il nous reste donc, comme moyen d'investigation, à faire absorber, par la branchie, une substance organique susceptible d'être modifiée par oxydation (colorant ou substance susceptible de se colorer), puis de voir comment va agir l'oxygène traversant l'épithélium sur le produit intraprotoplasmique résultant de l'absorption de la matière organique, c'est-à-dire sur la granulation formée.

Reprenons les expériences que j'ai faites avec la benzidine.

Je laisse une Huitre pendant vingt-quatre heures dans une solution faible de benzidine. Je la retire, puis je la mets dans de l'eau ordinaire ou à l'air. Les branchies brunissent; elles se pigmentent de la même façon si, en la sortant de la solution, on la met sans l'ouvrir dans une eau à laquelle on ajoute H₂O₂ faible. Dans tous les cas, la coloration est due à l'oxydation de la benzidine. Or, nous avons vu que l'examen microscopique sur le frais montre des granulations brunes très abondantes dans la partie apicale de l'épithélium.

Lorsque l'Huitre a séjourné vingt-quatre heures dans une solution faible de benzidine, ouvrons-la sans précautions et perçons quelques vaisseaux pour troubler la circulation. Versons ensuite, dans la coquille, de l'eau de mer à laquelle on ajoute quelques gouttes de H₂O₂ faible. Les branchies bleuissent. Des granulations bleues, correspondant aux granulations brunes ci-dessus, sont très abondantes dans la même région.

Ces deux expériences nous montrent que l'O, quelle que soit son origine, se fixe sur la granulation formée par la benzidine. Je pourrais citer, pour les compléter, les constatations de M. PRENANT sur les Moules absorbant des matières organiques variées qui se pigmentent aussi par oxydation.

Ces observations faites à la suite d'expériences parfaitement déterminées nous conduisent à examiner le très intéressant travail de Paul REMY sur l'appareil respiratoire et la respiration chez quelques Invertébrés (1925). Cet auteur a, en effet, obtenu des résultats qui complètent les précédents à la suite d'expériences et d'observations très nombreuses faites uniquement en vue de cette étude. Sa méthode est très spéciale : « J'ai pensé alors que l'injection, dans la cavité générale d'animaux vivants, de solutions de leucodérivés incolores ou jaunâtres qui, comme l'indigo blanc ou le bleu de méthylène, le vert Janus, le rouge neutre réduits, se combinent facilement avec l'O libre et les corps oxydants en repassant à l'état coloré, permettait de déceler les endroits où pénètre l'O dans l'organisme, c'est là que ces leucodérivés devraient s'oxyder en premier lieu.

« Je dois avouer tout d'abord que, chez un certain nombre de groupes d'Invertébrés, cette méthode m'a conduit à des échecs... Mais chez d'autres groupes d'Invertébrés, j'ai obtenu des résultats positifs : le leucodérivé est oxydé et redevient coloré en premier lieu dans les organes où, des contre-expériences faites sur des animaux asphyxiés ou anesthésiés le montrent, s'effectue l'hématose ; quelques secondes après l'injection, seuls ces organes sont colorés ;

on peut déceler ainsi automatiquement, avec une précision parfaite, les endroits où l'O ambiant pénètre dans l'organisme. »

Je ne me permettrai pas de critiquer sa méthode. J'ajouterai seulement que la benzidine, et sans doute d'autres substances du même ordre, peuvent donner des résultats précis chez les animaux aquatiques lorsqu'elles sont employées dans certaines conditions, et surtout après avoir déterminé par quelle voie elles pénètrent dans les tissus pour ne pas confondre l'absorption avec l'excrétion.

Il y a certainement d'autres méthodes susceptibles d'être employées concurremment avec les précédentes, dans le but de déterminer par quelles parties du corps se fait l'absorption de l'O chez les animaux aquatiques. Je citerai seulement là belle méthode de MUNRO FOX, inspirée de celle d'ENGELMANN. FOX, à l'aide d'un Flagellé (*Bodo sulcatus*) a montré que les larves rouges des Chironomes absorbent de l'oxygène par toute la surface de leur corps, excepté par la tête et les « branchies ventrales ». Mais cette méthode ne permet pas de se rendre compte comment l'O se présente dans les tissus.

Si nous examinons les résultats obtenus par Paul REMY, nous voyons toujours l'oxygène se fixer sur des granulations protoplasmiques de l'épithélium respiratoire. Je prendrai quelques exemples au hasard : « L'indigo blanc injecté dans le coelome de ces Insectes est oxydé très rapidement et avec intensité dans les cellules trachéolaires au voisinage immédiat des trachéoles et, d'une façon beaucoup moins active, dans l'épithélium chitinogène des trachées ; l'indigo bleu résultant de cette oxydation est fixé sur des sphérules et des granulations cytoplasmiques... Des observations analogues ont été faites chez des représentants de divers groupes d'Insectes.

« Cette oxydation est due à la présence, dans ces cellules, de l'O qui passe par la lumière des tubes aérifères dans le milieu interne : elle disparaît, en effet, presque totalement, chez les Plasmes tués par privation d'O ; son intensité est atténuée chez les animaux tués ou anesthésiés par certaines substances toxiques (CO², chloroforme)... »

Puis : « Lorsqu'on injecte à un *Palaemonetes* adulte quelques gouttes d'indigo blanc... On constate, à l'état frais et sur des coupes de branchies prélevées à ce moment, que l'indigo bleu est fixé sur des granulations cytoplasmiques des cellules épithéliales des lamelles. » Même constatation pour les lames branchiostèges et pour les régions où les sternites abdominaux s'articulent les uns avec les autres, endroits où le revêtement chitineux est mince, très transparent, mou.

Dans tous les autres groupes d'animaux observés par l'auteur les constatations sont les mêmes : « Donc les réactifs injectés, qu'il s'agisse d'indigo blanc ou de bleu de méthylène réduit, pénètrent bien dans les cellules respiratoires à l'état de leucodérivé et y demeurent à l'état réduit jusqu'au moment où ils rencontrent certaines granulations cytoplasmiques : ils se fixent alors sur-elles en s'oxydant très rapidement et en régénérant la coloration primitive... »

Il a été montré précédemment (p. 153 et suivantes) que ces granulations de l'épithélium branchial perdent leur pouvoir oxydant lorsque les branchies ne reçoivent plus d'O du milieu ambiant (ce qui se produit chez les Crevettes lorsque les appendices qui assurent le renouvellement de l'eau dans la cavité branchiale sont enlevés ou immobilisés par anesthésie) ; nous avons vu aussi que ces granulations possèdent à nouveau ce pouvoir oxydant dès que la branchie prend de l'O au milieu extérieur (ce qui a lieu lorsque l'anesthésie cesse ou lorsqu'on soulève les lames branchiostèges), et nous avons conclu que l'O qui, dans les granulations, transforme le leucodérivé en une substance colorée est de l'O respiratoire ; déceler le pouvoir

oxydant de ces granules, c'est mettre en évidence le passage de l'O ambiant à travers la paroi de l'organe respiratoire. »

De l'ensemble de ces observations, il ressort que le résultat du passage de l'oxygène dans le protoplasma épithélial est le même que celui des matières organiques. C'est une granulation. L'oxygène peut se fixer sur une granulation déjà formée par une autre substance. L'inverse peut se produire. L'absorption de l'oxygène semble dès maintenant se rattacher étroitement à celle des substances dissoutes. Ce ne serait qu'un cas particulier. Cette idée se confirmera par la suite.

2° *Absorption de l'eau.* — Les théories osmotiques du passage de l'eau de l'extérieur à l'intérieur du corps des animaux, lorsque ceux-ci sont placés dans un milieu plus dilué, sont classiques. Je ne m'occuperai pas, pour le moment, de la nature du phénomène. Je veux seulement examiner si le passage de l'eau dans le protoplasma épithélial n'y laisse pas de trace lui aussi. J'ai examiné à cette fin l'épithélium branchial de l'Huitre.

Je laisse une Huitre pendant vingt-quatre heures dans une eau de mer très diluée par rapport à celle où elle a été prise. Je constate, en l'ouvrant, que l'Huitre est fortement gonflée par rapport au témoin. C'est un phénomène bien connu. Il est facile de se rendre compte que les vaisseaux et les lacunes ne sont pas seuls à y participer. Les tissus eux-mêmes sont gonflés.

Si je mets entre lame et lamelle un lambeau de feuillet branchial pris sur l'Huitre témoin, le tissu s'aplatit, puis revient plus ou moins vers son état primitif dès que la pression cesse. Il est élastique.

Si j'opère de la même façon avec un lambeau de feuillet branchial pris à l'Huitre qui a séjourné dans l'eau diluée, le résultat n'est plus le même. Le tissu ne résiste pas à une très légère pression. Il se désagrège. Le protoplasma épithélial se résout en gouttelettes plus ou moins grosses.

Examinons un autre lambeau de cette même Huitre entre lame et lamelle sans exercer de pression. Nous voyons dans le protoplasma épithélial de grosses gouttelettes claires plus ou moins libres de granulations. L'aspect n'est pas du tout le même chez l'Huitre témoin.

Le résultat du passage de l'eau à travers le protoplasma épithélial est donc une gouttelette.

Il est curieux de constater une différence entre les matières organiques, sels de fer, oxygène et l'eau. Pour les premiers il se forme une granulation; pour l'eau, c'est une grosse gouttelette. Nous comprendrons cette différence par la suite. Malgré tout, l'absorption de l'eau nous apparaît déjà comme un cas particulier de l'absorption des substances extérieures.

Granulations, gouttelettes. — Au cours de l'exposé de mes expériences sur l'absorption directe, il m'était nécessaire, en constatant la présence dans l'animal de la matière organique absorbée, de préciser où elle se trouvait et la forme sous laquelle elle s'y présentait, ceci pour avoir un terme de comparaison. J'ai signalé, soit dans mon propre exposé, soit dans les citations, que des granulations se formaient ou que des substances se fixaient sur des granulations. On ne doit pas accorder de valeur explicative à ces termes.

Je vais maintenant m'en occuper spécialement pour contribuer à établir leur déterminisme. Dans ce chapitre, je me placerai à un point de vue très général. Je me demanderai seulement si elles sont une simple précipitation de la matière absorbée ou si elles sont d'origine protoplasmique. C'est la première question qui se pose.

Je ne parlerai d'abord que des granulations.

Pour CHURCHILL, bien qu'il ne le précise pas, les granulations intraprotoplasmiques

résultant de l'absorption des matières organiques dissoutes ne seraient qu'une simple précipitation de celles-ci. Il n'a pas étudié, il est vrai, cette question d'une façon spéciale.

D'après Paul REMY, les granulations seraient préformées : « La substance colorante est fixée sur de fines granulations intracytoplasmiques qui existent en quantités variables suivant les cellules et qui, suivant les régions examinées, sont soit réparties d'une façon à peu près uniforme dans tout le cytoplasme, soit plutôt groupées tantôt au pôle externe, tantôt au pôle interne (sanguin), tantôt encore dans la région moyenne de la cellule. »

Ailleurs on trouve : « L'indigo bleu résultant de cette oxydation est fixé sur des sphérules et des granulations cytoplasmiques qui sont sans doute de nature mitochondriale. »

Cet auteur n'insiste pas sur leur origine.

Examinons de plus près les faits que j'ai rapportés dans la première partie.

En comparant l'épithélium branchial des Huitres en expérience avec celui des témoins, nous avons constaté que le premier était toujours bourré de nombreuses granulations, quelles que soient les substances absorbées, en dehors de l'eau. Il est certain que, presque toujours, l'épithélium de l'Huitre témoin présente des granulations ; mais du fait que le protoplasma épithélial de celle en expérience en présente toujours un plus grand nombre, et d'autant plus qu'elle y reste plus longtemps et absorbe plus de substance, nous devons conclure que les granulations se forment au moment où pénètre la substance dans le protoplasma. On a vu qu'une substance peut se fixer sur une granulation déjà formée. D'après ce qui précède, nous devons considérer celle-ci et par conséquent les granulations de l'épithélium témoin comme formées lors de la pénétration, dans les conditions naturelles, d'une substance présente dans l'eau : oxygène ou autre.

Nous pouvons donc affirmer qu'une substance (en dehors de l'eau) qui pénètre dans le protoplasma épithélial de la branchie se fixe d'abord sur les granulations formées par une substance qui y a pénétré antérieurement, puis il en apparaît de nouvelles.

Examinons maintenant, entre lame et lamelle, un lambeau de feuillet branchial coloré par absorption d'un colorant artificiel. Ecrasons légèrement la préparation de façon à libérer les granulations colorées. Celles-ci au contact de l'eau de la préparation se décolorent. On voit nettement que le colorant est expulsé. S'il ne se libère pas dans l'eau, il suffit d'ajouter de l'alcool entre lame et lamelle. Il reste une granulation sans colorant qui est d'origine protoplasmique.

Ainsi la substance organique qui pénètre dans le protoplasma épithélial de la branchie y provoque la formation d'une granulation protoplasmique sur laquelle elle se fixe.

En ce qui concerne l'eau nous observons, de la même façon, que la gouttelette qui apparaît lors de son passage dans le protoplasma épithélial est une gouttelette protoplasmique sur laquelle se fixe l'eau.

Dans un prochain chapitre, lorsque j'aurai examiné d'autres faits, je reviendrai sur ces granulations et gouttelettes.

A mesure que nous avançons dans l'étude du phénomène de l'absorption directe des matières organiques dissoutes dans l'eau par la branchie, le rôle que joue le protoplasma épithélial se précise. Il nous apparaît dès maintenant comme très actif. Nous verrons plus loin ce que nous devons en penser.

Comment ces granulations passent-elles dans le sang. — Il est une constatation que tous les auteurs ont faite. Ces granulations protoplasmiques porteuses de matières organiques absorbées se retrouvent dans le sang, mais englobées dans les amœbocytes.

J'ai signalé déjà l'explication classique : les amœbocytes du sang viennent les prendre à l'épithélium et les transportent par le sang aux divers organes.

Revenons aux faits de la première partie.

Nous avons vu que les granulations protoplasmiques augmentaient à mesure que la quantité de substance absorbée était plus grande. En même temps, j'ai signalé que les amœbocytes (leucocytes) granuleux augmentaient dans le sang. Avec certaines substances, le nombre des amœbocytes devient tellement grand qu'ils forment des amas très visibles dans les lacunes et canaux sanguins. Nous sommes en présence d'une leucocytose ou « leucocytosis » des auteurs anglais.

J'ai réalisé expérimentalement de nombreux cas de leucocytose et nous avons vu que ce phénomène a lieu dans la nature.

Puisque les amœbocytes deviennent beaucoup plus nombreux dans l'animal expérimenté, c'est donc que leur formation a lieu à mesure que la substance est absorbée. Il est tout naturel de se demander où ils se forment. Rappelons-nous nos expériences avec le rouge neutre.

J'ai assisté, sous le binoculaire, à la formation d'une granulation rouge dans l'épithélium du manteau, puis je l'ai vue s'enfoncer aussitôt en profondeur dans l'épithélium et passer dans le sang englobée dans un amœbocyte. Le passage dans le sang est donc parfois rapide. Si je laisse le phénomène se dérouler naturellement, c'est au bout de quelques jours seulement que les lacunes et vaisseaux seront remplis d'amas d'amœbocytes rouges. Si, au contraire, je place l'Huitre sortant du rouge neutre, et par conséquent ne présentant des granulations rouges que dans les épithéliums externes, dans une eau et atmosphère saturés en O₂, en quelques minutes les lacunes et canaux sont remplis d'amas d'amœbocytes.

Le passage de l'oxygène qui se fixe, comme nous l'avons vu, soit sur les granulations déjà formées, soit sur de nouvelles a provoqué subitement une production intense d'amœbocytes. Le passage dans le sang du rouge neutre et très probablement de l'oxygène absorbé, a été rapide. Cette rapidité est due à l'excès d'oxygène.

Ces faits ne laissent place qu'à une explication : les amœbocytes ont pris naissance, dans l'épithélium, au niveau même des granulations qu'ils ont entraînées dans le sang.

L'absorption d'une substance a donc provoqué d'abord la formation de granulations protoplasmiques sur lesquelles elle s'est fixée, puis des groupes de celles-ci englobés dans une gouttelette de même origine formée sur place ont été entraînés dans le sang. L'amœbocyte nous apparaît, dès maintenant, comme une simple gouttelette protoplasmique chargée de substance étrangère en liaison avec un élément également protoplasmique. Nous verrons que cette idée se précisera par la suite.

Nous connaissons désormais l'origine des granulations de l'amœbocyte. On comprend que leurs réactions puissent différer de l'un à l'autre, les substances qu'elles transportent pouvant beaucoup varier. La même cause doit présider à la différence de forme entre les amœbocytes. Il serait trop long de faire un résumé des travaux parus sur les granulations des leucocytes. Je me contenterai de renvoyer aux travaux de LEVADITI (1), Anna DRZEWINA (2) et Max KOLLMANN (3).

(1) LEVADITI, Le leucocyte et ses granulations. *Scientia*, 1902.

(2) Anna DRZEWINA, Contribution à l'étude du tissu lymphoïde des Ichthyopsidés. *Arch. de Zool. exp. et gén.*, IV^e série, t. III, 1905.

(3) Max KOLLMANN, Recherches sur les leucocytes et le tissu lymphoïde des Invertébrés. *Annales des Sc. nat.*, IX^e série, t. VII-VIII, 1908.

Ce n'est qu'en cherchant à établir dans tous les cas le déterminisme de leur formation que l'on pourra comprendre leurs réactions, parce qu'on connaîtra leur véritable nature.

Nous pouvons nous demander dès maintenant — et ceci peut être une hypothèse de travail — si le mécanisme de l'absorption intestinale ne se rapproche pas de celui que je viens de décrire. Nous sommes là aussi en présence d'un tissu absorbant, c'est pourquoi la comparaison est possible. Je n'ai pas fait d'observations suivies sur l'absorption intestinale chez l'Huître. Cependant, quelques constatations à ce sujet semblent appuyer mon hypothèse. C. M. YONGE (1926) l'a étudiée récemment, mais il adopte le point de vue classique du leucocyte venant prendre dans l'épithélium les substances absorbées pour les transporter dans le sang.

On comprendrait alors, en généralisant, les faits signalés par divers auteurs. Max KOLLMANN par exemple dit : « Le sang des Crabes (*Carcinus maenas* L.), contient des leucocytes granulés et des leucocytes dépourvus de granulations. Si on soumet l'un de ces animaux à un jeûne rigoureux, on constate que le nombre des granulés diminue régulièrement... Si, au contraire, on nourrit abondamment un Crabe, préalablement soumis à l'inanition, le nombre des éléments granulés augmente assez rapidement. » Anna DREZEWINA (1905), pour les Vertébrés, s'exprime ainsi : « Je crois, d'autre part, qu'il serait possible, par un changement dans le régime alimentaire et en général dans les conditions de vie, de provoquer chez les Ichthyopsidés une augmentation ou une régression de telle ou telle autre espèce leucocytaire. Des expériences faites dans cette direction sur les Vertébrés supérieurs ont donné des résultats très intéressants. Tout récemment ASHER et ERDELY (1), en nourrissant des rats blancs, tantôt avec de la viande maigre, tantôt avec des pommes de terre, avec de la graisse, ou les faisant jeûner ont fait varier à volonté le nombre des différents types leucocytaires de la paroi intestinale. Ainsi, si on nourrit les rats avec de la viande, le nombre des leucocytes granuleux « Heidenhain's roth-Körnige zellen », augmente considérablement ; il diminue, si on les nourrit avec de la graisse ; avec des pommes de terre exclusivement le nombre des petits lymphocytes et des leucocytes « vésiculo-nucléaires » s'accroît, etc. »

L'Amœbocyte et ses granulations. — Nous savons à présent comment se sont formées les granulations puis l'amœbocyte. Nous verrons plus loin quels sont les phénomènes qui ont pu présider à leur formation. L'amœbocyte avec ses granulations passe dans le sang. Nous allons l'étudier séparément, non pas seulement au point de vue descriptif, car nous savons maintenant que sa forme dépend de sa composition, des éléments qu'il transporte, en un mot de son chimisme, mais surtout au point de vue dynamique.

Examinons d'abord un fait intéressant. Ouvrons une Huître sortant de l'eau et, avec une pipette faisons une prise de sang dans l'oreillette. Au microscope, on y trouve surtout des amœbocytes granuleux ordinaires. Les granulations petites ou moyennes ne les remplissent pas complètement. Ils possèdent nettement des prolongements amœboïdes dont la forme varie beaucoup.

Laissons une Huître du même lot, hors de l'eau pendant plusieurs jours. Elle se dessèche progressivement. Avant qu'elle ne soit pas trop sèche, faisons une prise de sang dans l'oreillette. Cette fois nous trouvons un grand nombre d'amœbocytes avec de grosses granulations nombreuses, qui les remplissent complètement, à tel point qu'on se croirait plutôt devant

(1) ASHER et ERDELY. Ueber die Beziehung zwischen Bau und Function des lymphatischen Apparates des Darmes. (*Centralb. für Physiol.*, 1903, Bd XVI, p. 705.)

un simple amas de granulations accolées. On ne remarque pas de prolongements ni aucun mouvement particulier.

Laissons tomber une goutte d'eau sur le bord de la lamelle en aspirant légèrement avec un buvard à l'extrémité opposée. Au bout d'un instant, en fixant un de ces amœbocytes à grosses granulations, on voit se dessiner à la périphérie une zone claire qui déborde les granulations. Celles-ci paraissent bien maintenant se trouver dans un amœbocyte. Puis l'amœbocyte se déforme, pousse des prolongements amœboïdes de formes variées et les granulations se déplacent les unes par rapport aux autres ; leur ensemble suit les déformations de l'amœbocyte.

Une simple dilution du milieu a suffi pour le rendre actif, alors qu'il était inactif.

Je vais maintenant poursuivre cette action de l'eau douce mais sur un amœbocyte quelconque.

Si c'est possible, faisons une prise dans une Huitre présentant une forte leucocytose. On en aura alors une abondance extraordinaire plus ou moins réunis en amas.

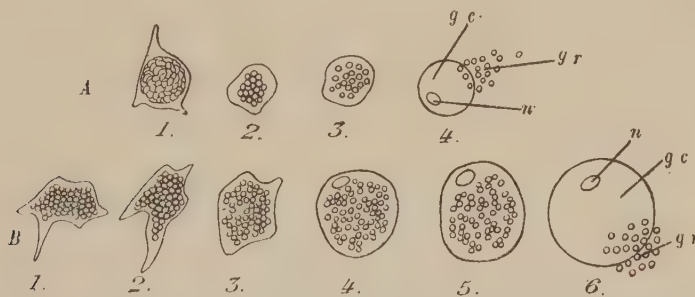


FIG. 16. — A Amœbocyte d'une Huitre, présentant le phénomène de leucocytose, soumis à l'action progressive de l'eau diluée ; B Amœbocyte d'une Huitre partiellement desséchée, soumis à la même action ; g. c., Gouttelette claire ; gr., Granulations ; n, Noyau.

Entre lame et lamelle, par la procédé classique, introduisons progressivement de l'eau douce. Je vais décrire les phénomènes auxquels nous assistons. On peut les suivre en même temps sur la figure 16.

Les prolongements se gonflent et la masse centrale s'entoure d'une zone claire qui déborde légèrement. C'est ce que nous avons vu précédemment. A mesure que le milieu se dilue cette zone claire

augmente de plus en plus de volume et bientôt l'amœbocyte est complètement sphérique. Lorsque la masse centrale est bourrée de matière étrangère absorbée, comme cela se produit lors d'une leucocytose, les granulations n'y sont pas très apparentes ; mais dès que l'amœbocyte se gonfle, elles se précisent, et bientôt elles sont très nettement accolées à l'intérieur.

Lorsque dans l'amœbocyte, il n'y a que quelque-unes de ces dernières au milieu d'une masse homogène, celle-ci se résout dès le début du gonflement en granulations qui ne se distinguent plus des premières.

Dans tous les cas, au bout d'un instant, nous avons une masse sphérique possédant une bordure claire et un centre formé d'un groupe de granulations accolées.

Puis, à mesure que le gonflement se poursuit elles s'isolent et, à partir de ce moment, elles sont animées d'un mouvement rappelant le mouvement brownien. On a alors sous les yeux une grosse gouttelette claire dans laquelle s'agitent de plus en plus rapidement les granulations. Excentriquement, dans cette même gouttelette, on en remarque une autre, plus petite ; elle est immobile : c'est le noyau.

Le gonflement continue et brusquement a lieu comme un éclatement. Les granulations sont expulsées à l'extérieur, toutes au même niveau. Elles restent accolées quelques instants à la surface extérieure de la gouttelette d'où elles sortent. Le courant les entraîne et elles se

dispersent. Elles continuent d'ailleurs à s'agiter dans le milieu extérieur, mais plus faiblement qu'à l'intérieur.

La grosse gouttelette claire, sphérique, subsiste, sans autre changement, avec le noyau excentrique. Avons-nous assisté à un véritable éclatement, c'est-à-dire au remplissage progressif d'une petite outre provoquant à un moment donné la rupture brusque de sa membrane extérieure et, par suite, se vidant? Non, car nous avons encore sous les yeux la gouttelette parfaitement sphérique et bien homogène. Nous avons assisté au gonflement, résultant de l'imbibition par l'eau douce, d'une substance qui apparaît comme une des phases du protoplasma. A son imbibition maximum, les granulations qu'elle contenait ont été expulsées brusquement par un simple phénomène physique. C'est leur passage rapide de l'intérieur à l'extérieur de la gouttelette qui donne l'impression d'un éclatement.

Nous ne sommes donc pas en présence d'une outre, et nous pouvons dire que l'amœbocyte ne possède pas de membrane externe. Le terme de « gouttelette de protoplasma » que je lui ai donné jusqu'ici lui convient donc parfaitement.

Quelle est la nature de l'action de l'eau sur l'amœbocyte? — Nous constatons ainsi que chacun des éléments du complexe protoplasmique possède une affinité propre pour l'eau. C'est pourquoi celle-ci les a séparés dans l'amœbocyte. Il en est une qui possède un très grande affinité pour l'eau; son imbibition, qui provoque le gonflement de l'amœbocyte, nous apparaît nettement comme le résultat d'un phénomène essentiellement chimique car il n'y a pas de membrane externe.

Cette première phase constitue la grosse gouttelette claire. Une seconde est constituée par le noyau restant à l'intérieur de la précédente après l'expulsion des granulations. Enfin une troisième forme les granulations. Cette dernière cependant paraît plus complexe, ainsi que le montreront les faits examinés plus loin.

Cette grosse gouttelette claire, nous l'avons déjà vue dans le protoplasma épithélial du feuillet branchial d'une Huître ayant vécu quelque temps dans une eau de mer très diluée. Sans aucun doute, son origine est la même et cela appuie le fait que l'amœbocyte se forme dans le protoplasma épithélial; mais cela nous indique aussi que l'absorption de l'eau par la branchie de l'Huître donne lieu à un phénomène chimique dans l'épithélium, et, de là à conclure que l'absorption de l'eau est le résultat de l'affinité chimique de l'une des phases du protoplasma pour elle, il n'y a qu'un pas.

Il est un fait sur lequel je veux revenir parce que certaines particularités s'expliquent maintenant. J'ai signalé précédemment qu'un amœbocyte bourré de grosses granulations présentait des mouvements amœboïdes dès qu'on diluait l'eau dans laquelle il se trouvait. Sur son pourtour apparaît une zone claire qui n'est, nous le comprenons à présent, qu'une imbibition locale d'une des phases du protoplasma. Là encore il n'existe pas de membrane.

Nous trouvons, dans la littérature, quelques faits qui se rapprochent de ceux-là.

JOSÉ M. SUSAETA (1926), étudiant l'action de l'eau diluée sur le spermatozoïde de *Carcinus mænas* a constaté un gonflement, assez complexe d'ailleurs par suite de sa structure, qui le transforme en une grosse sphère dans laquelle se trouve la capsule. Celle-ci est enfin expulsée mais, pour l'auteur, c'est, à la suite du déchirement de « l'enveloppe externe ». Il est curieux de constater que la capsule ne se vide pas de son contenu. En réalité, cette observation ne paraît pas poussée à fond. L'auteur ne parle d'ailleurs pas du tout du mécanisme du phénomène. Il y fait simplement allusion au début de son travail lorsqu'il rappelle les

observations antérieures de LABBÉ (1) et KOLTZOFF (2). Il dit, assez justement d'ailleurs : « Déjà LABBÉ et KOLTZOFF avaient surpris sous le microscope ces changements de formes dus à l'action d'agents divers ; mais sous l'influence d'idées prédominantes alors en physico-chimie cellulaire, ils avaient attribué le gonflement et le plissement des spermatozoïdes, presque exclusivement à de simples changements osmotiques, cherchant là (KOLTZOFF surtout) la confirmation des règles établies spécialement par H. DE VRIES en 1884. Mais, il est évident que les changements observés sont trop compliqués pour pouvoir être expliqués par de simples phénomènes d'osmose. »

Examinons maintenant le résultat des dernières recherches sur les globules rouges du sang. Je n'ai pas lu les travaux particuliers à ce sujet. J'ai trouvé tous les renseignements nécessaires dans le Cours de physiologie (1926) du Professeur Louis LAPICQUE. (Notes rédigées par A. CHERBULIEZ.)

« Les globules rouges des Mammifères, dit-il, ne sont même pas de véritables cellules, mais seulement de petites masses d'un gliode particulier, homogène, optiquement vide, chargé d'un pigment spécial : l'hémoglobine. » C'est l'idée exprimée par F. D'HERELLE en 1923 : « Chez les Vertébrés, les hématies ne sont même que des fragments de cellules, des particules de protoplasma imprégnées d'hémoglobine. »

On sait que dans une solution de Na Cl, à partir d'une certaine concentration le globule se gonfle, libère une partie de son contenu avec l'hémoglobine. Il ne reste plus que le stroma. Louis LAPICQUE résume les théories émises pour rendre compte du phénomène, et surtout celle de HAMBURGER qui supposait une membrane hémiperméable à la périphérie du globule rouge, puis il ajoute : « Il est difficile d'admettre cependant avec lui (HAMBURGER) qu'il y a une membrane globulaire se rompant dans les solutions hypotoniques à partir d'un gonflement maximum limité. Dans ce cas, en effet, le sac qui constitue la membrane hémiperméable se briserait en un point de plus faible résistance, et on verrait par là s'échapper le contenu, ce qui n'est pas. Il est plus exact de décrire le phénomène comme une sorte d'explosion du globule tout entier correspondant à un gonflement illimité du gliode qui le constitue. »

Plus loin, après avoir rappelé que la concentration moléculaire du contenu globulaire est nettement inférieure à celle du sérum et d'autres faits encore, il conclut : « La théorie osmotique du gonflement est donc ici nettement en défaut ; en particulier, dans le cas des solutions hypotoniques, le globule est détruit, nous dirons dissous, alors qu'il y a justement égalité des pressions osmotiques.

Le phénomène primordial, à notre avis, c'est que... chacun des éléments colloïdaux du complexe constituant le gliode a une affinité propre pour l'eau ; pour les uns elle augmente avec l'hypotonicité de la solution, pour les autres elle diminue, d'où, à la limite : dissolution des premiers, précipitation des seconds avec destruction du complexe. Le gonflement du globule est donc un phénomène essentiellement chimique d'imbibition ».

Et enfin : « Ainsi, on peut expliquer les faits trouvés sur le globule rouge sans faire inter-

(1) A. LABBÉ, La maturation des Spermatides et la constitution des Spermatozoïdes chez les Crustacés décapodes. *Arch. de Zool. expér. et gén.*, IV^e série, II, 1904.

A. LABBÉ, Sur la spermatogenèse des Crustacés décapodes, *C. R. Ac. Sc.*, 1903, t. CXXXVIII.

(2) KOLTZOFF (N.-K.), Studien über die gestalt der Zelle. Untersuchungen über die Spermien der Decapoden, als Einleitung in das Problem der Zellergestalt. *Arch. mik. Anat.*, Bd 67, 1906.

venir une membrane hypothétique semi-perméable et *il n'y a plus lieu de parler des phénomènes osmotiques.* »

L'action de l'eau sur le globule rouge comme sur l'amœbocyte (ou leucocyte) est donc une action purement chimique.

Quelques hypothèses. — 1^o Revenons à l'examen microscopique entre lame et lamelle d'amas d'amœbocytes dans un milieu progressivement dilué. Nous les voyons se gonfler, les uns après les autres et expulser leurs granulations. Nous assistons, en somme, au phénomène désigné par le terme très général de « Leucocytolyse ».

On peut se demander si ce phénomène n'a pas lieu dans le sang de la même façon. Au cours de mes expériences, je n'ai pas examiné la question. Je n'ai pas cherché chez les Huîtres vivant dans une eau de mer très diluée si le nombre des amœbocytes diminuait dans le sang. Je reprendrai la question d'ailleurs, car il sera facile de faire l'observation avec une Huître présentant de la leucocytose naturelle ou expérimentale. Cette idée m'est venue à la lecture du travail de T. MANOUKHINE (1925). Il rappelle que AL. SCHMIDT et ses élèves ont été frappés par cette observation : « L'introduction de substances nocives en solution ou même d'eau distillée dans la circulation de chiens, de chats ou de moutons était inmanquablement suivie de la disparition des leucocytes dans le sang de ces animaux, immédiatement après l'injection. Par contre, la disparition des leucocytes était suivie par un accroissement notable de fibrine-ferment dans le sang, dont la coagulabilité augmentait parallèlement. Les expériences classiques de AL. SCHMIDT ont démontré que ces deux phénomènes sont bien dus uniquement au processus de la destruction leucocytaire. »

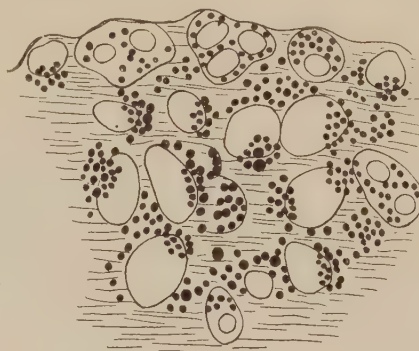


FIG. 17. — Fragment d'une glande de l'oreillette d'une Huître (vu sur le frais).

Mes observations apportent un appui au fait que l'eau distillée est susceptible de provoquer la « leucocytolyse » et en indiquent le mécanisme qui doit certainement se poursuivre plus avant dans le plasma sanguin par la transformation des phases protoplasmiques isolées. Elles ne permettent nullement d'apporter un point de vue sur la conclusion de l'auteur : « La leucocytolyse seule a le pouvoir de communiquer au milieu sanguin ses propriétés immunisantes ; »

2^o Lorsque les amœbocytes sont en amas, l'eau qu'ils absorbent les gonfle mais ils se gènent parfois et seuls ceux de la périphérie éclatent, les autres restent plus ou moins gonflés, gardant leurs granulations à l'intérieur.

Cet aspect rappelle tout à fait celui de la glande de la surface de l'oreillette (fig. 17), et j'ai vu là une explication possible du mécanisme de l'excrétion à ce niveau — c'est une hypothèse de travail seulement. — GROBBEN (1886-88) et BOLTZAMANN (1906) ont décrit ces glandes. JEAN TURCHINI (1923), dans son travail sur l'excrétion urinaire chez les Mollusques, s'en occupe particulièrement. Il résume les diverses interprétations sur le mode d'excrétion à leur niveau. Pour lui : « elles n'excrètent pas continuellement : elle sont d'ailleurs dépourvues de brosse. Lorsque les cellules ont trop accumulé, leurs produits de sécrétion tombent naturellement dans le péricarde. »

Ailleurs il dit : « Elles présentent des vacuoles, des concrétions ou des concrétions envacuolées, suivant les espèces. »

Ce que les auteurs appellent dans ce cas « vacuoles » ressemble parfaitement aux goutte-

lettes claires résultant de l'imbibition d'une phase protoplasmique. S'il est montré que « la vacuole » des auteurs — et ceci ne s'applique pas seulement à ce cas, mais partout pour les tissus animaux — ne possède pas de membrane, il faudra bien reconnaître qu'il s'agit d'une simple gouttelette.

Il semble bien que, dans le cas des glandes péricardiques, nous soyons en présence d'une gouttelette, mais les concrétions qu'elles contiennent diffèrent des granulations protoplasmiques de l'amœbocyte. Elles sont en général plus grosses et n'ont pas le même aspect. La granulation protoplasmique est restée probablement dans le sang, et la substance de déchet seule subsiste dans la gouttelette. Celle-ci en se gonflant progressivement finira par l'expulser, comme nous avons vu les granulations sortir de l'amœbocyte.

Réactions diverses des gouttelettes et granulations. — Nous avons vu que la gouttelette, les granulations et le noyau représentent les éléments protoplasmiques composant l'amœbocyte. Elles ont été séparées sous l'action de l'eau.

Faisons agir l'eau sur un amœbocyte bourré d'une masse plus ou moins granuleuse de rouge neutre. Nous assistons au même gonflement. Seules les granulations sont rouges. Elles sont finalement expulsées. Le noyau est légèrement rose pâle.

Reprenons des amœbocytes granuleux ordinaires et faisons agir sur eux, non plus de l'eau seule, mais de l'eau contenant en dissolution un colorant vital. Nous voyons le même phénomène que ci-dessus se produire. Quel que soit le colorant employé j'ai toujours constaté qu'il se fixait sur les granulations et jamais sur la gouttelette, c'est-à-dire jamais sur la phase qui s'hydrate.

J'insiste sur le fait que, aucun colorant, même le rouge neutre, ne se fixe sur la phase qui s'hydrate. Seules les granulations, qui ne sont nullement des vacuoles, mais de petites gouttelettes d'une autre phase protoplasmique — hydrophobe — l'absorbent.

Le bleu de méthylène donne à la surface de la gouttelette, mais à ce niveau seulement, une teinte légèrement bleue. Il colore bien le noyau à l'intérieur.

Sous l'action de l'acide osmique, les granulations seules noircissent. Avec la solution alcoolique de Sudan III et la solution alcool-acétone de Scharlach, ce sont encore elles seules qui fixent le colorant, la gouttelette se contracte sous l'action de l'alcool qui la déshydrate.

Or, nous avons vu que les granulations se forment dans le protoplasma épithélial quand des substances y pénètrent, ces dernières se fixant sur elles. Nous comprenons maintenant pourquoi toutes les substances susceptibles d'être absorbées, que nous avons étudiées, se fixent indistinctement sur des granulations tandis que l'eau seule forme des gouttelettes. C'est là, le résultat des affinités chimiques différentes des phases du protoplasma. La fixation des diverses substances sur les granulations nous apparaît elle-même comme le résultat d'un phénomène chimique. En ce qui concerne les colorants cela ne fait que confirmer les idées de divers auteurs, mais surtout celles de RUŽICKA (1905) qui les a basées sur des faits précis.

Pour l'oxygène, il en est de même. Il arrive dans le sang à l'état combiné et non dissous : Paul REMY dit : « Le sang de certains Insectes (Coléoptères vésicants, certaines chenilles) qui brunit au contact de l'O non combiné par suite de l'oxydation d'un chromogène incolore, devrait subir cette oxydation au contact des cellules respiratoires et brunir dans le corps de l'animal ; on sait qu'il n'en est rien ; il faut donc admettre que l'O n'arrive pas au sang à l'état de simple dissolution, mais sous la forme d'une combinaison qui ne cède pas au chromogène sanguin l'O nécessaire à la formation du pigment mélanique. » Puis : « l'O qui provient de la lumière des canaux n'est donc pas dissous dans la masse cytoplasmique : il doit subir une série de transformations chimiques dans le sein de la cellule, et les grains qui oxydent l'indigo réduit, représenteraient, matérialiseraient un de ses états. »

Par ailleurs, on sait qu'une solution alcaline de rouge neutre est jaune. Faisons vivre une Huitre dans une telle solution. Les branchies deviennent rouges. Les granulations protoplasmiques sont rouges tant dans l'épithélium que dans les amœbocytes. Cette réaction indique leur acidité. Ce n'est pas la première fois qu'elle est signalée. Sans aucun doute, elle est due à la présence d'un acide organique.

Or, lorsque la gouttelette qui se gonfle en s'hydratant expulse les granulations, celles-ci, comme je l'ai dit, se dispersent dans l'eau. A ce moment, elles libèrent le rouge neutre, comme on peut très bien le constater sous le microscope. Il reste un grain incolore. Le départ du colorant doit certainement accompagner celui d'un des éléments de la granulation initiale qui nous apparaît ainsi comme un complexe.

Il y a tout lieu de penser que c'est l'acide qui a été libéré dès qu'il est sorti de la gouttelette. Ce n'est qu'un cas particulier de « l'acidification du milieu par cytolysse cellulaire » (A. DREZEWINA et G. BOHN, 1925).

Quels que soient les éléments composant la granulation, elle fixe l'oxygène et doit être le lieu des oxydations. Nous avons vu qu'elle fixe aussi les autres substances absorbées. Elle joue peut-être vis-à-vis de certaines le rôle de réducteur. En tout cas, les substances absorbées doivent se transformer, se désintégrer, et des substances nouvelles prendre naissance à son niveau.

Quelques-unes de ses réactions nous indiquent la présence d'un lipoïde, mais, d'autre part, beaucoup d'auteurs ont insisté sur le caractère albuminoïde de la granulation.

En réalité, elle doit être formée d'un complexe lipoprotéique. Mais alors, si la « mitochondrie » des auteurs est constituée par des lipoïdes phosphorés à acides gras non saturés, comme l'ont établi MAYER, RATHERY et SCHAEFFER (1914), elle ne serait qu'une des phases de la granulation, ces phases étant séparées par les réactifs employés. Si la « mitochondrie » est un complexe lipoprotéique, comme GIROUD (1925) l'admet, elle correspond très probablement à la granulation.

Sur la phase qui s'hydrate et forme la gouttelette, je ne peux rien dire, n'ayant obtenu sur elle, en dehors de l'action de l'eau, aucune réaction positive. Deux hypothèses peuvent être émises. Sachant que l'eau, dans la cellule, ne se trouve pas à côté des protéiques mais leur est intimement mélangée, on peut supposer que c'est la phase protéique qui s'hydrate. Les lipoïdes qui sont très peu miscibles avec l'eau restent sous forme de granulations. Ou bien, si l'eau ne détruit pas le complexe lipo-protéique formant la granulation, il s'agit d'une autre phase, d'une autre substance qui s'imbibe d'eau.

De l'ensemble de ces constatations, il ressort le fait général que toutes les substances absorbées arrivent dans le sang non pas telles qu'elles étaient à l'extérieur ni même en solution, mais à l'état de véritables combinaisons organiques, probablement instables. Celles-ci sont le résultat de réactions chimiques avec le protoplasma dans l'épithélium.

La respiration ou absorption de l'oxygène n'est qu'un cas particulier du phénomène de nutrition. Elle ne diffère pas de celle des autres substances

Cette absorption est le résultat d'un phénomène que nous allons étudier maintenant.

b) L'absorption par l'épithélium externe

CARAZZI (1896) se trompait sur la nature de la substance absorbée, mais il était arrivé, comme nous l'avons vu, à l'idée d'une absorption directe. Il disait : « Le phénomène du ver-

dissement est dû à une véritable fonction d'assimilation du protoplasma de la partie apicale des cellules cylindriques épithéliales de toutes les muqueuses, tant externes qu'internes, excepté celles de l'estomac et de la région occupée par la tige cristalline. »

Pour CHURCHILL (1916), la graisse ne serait pas absorbée sans modifications. Il y aurait d'abord séparation au contact de l'épithélium de l'acide gras et de la glycérine qui seraient absorbés et se combineraient de nouveau à l'intérieur.

Ainsi l'activité particulière du protoplasma épithélial dans l'absorption avait été soupçonnée. L'épithélium n'a jamais été considéré comme une membrane inactive entre le milieu extérieur et le milieu intérieur.

J'ai montré, dans les pages précédentes, que toutes les substances absorbées au niveau de l'épithélium branchial des Huitres subissaient dans celui-ci des transformations qui en faisaient des combinaisons organiques, seule forme sous laquelle elles pénètrent dans le milieu intérieur. La sélection qu'opère l'épithélium dans les substances présentes dans le milieu extérieur, l'absorption d'un seul des éléments d'un complexe, comme c'est le cas pour le bleu d'aniline, sont l'indice de véritables réactions chimiques entre le protoplasma et les éléments du milieu extérieur.

Le rôle joué par l'épithélium dans les échanges nous apparaît ainsi de plus en plus important. Il n'est pas une « membrane » inactive, mais au contraire un élément extrêmement actif. Si nous donnons toute sa valeur au fait qu'il ne livre au milieu intérieur que des substances modifiées par leurs combinaisons organiques, nous sommes tentés d'admettre que le protoplasma épithélial joue le rôle essentiel, que son état physico-chimique règle les échanges.

En ce qui concerne l'eau, les sels et les gaz, il est certain que cet état dépend de la concentration de ces éléments à l'intérieur et à l'extérieur du corps, sur une face et sur l'autre de l'épithélium. En définitive, le résultat de ses modifications internes peut être, à peu de choses près, celui que donnerait à sa place une simple membrane. Il n'en est pas moins vrai que c'est son activité qui règle l'échange.

Pour les matières organiques du milieu extérieur, il y a absorption par réaction physico-chimique au contact du protoplasma épithélial. L'épithélium branchial n'a pas de membrane.

Nous arrivons ainsi aux mêmes conclusions que PAUL RÉMY qui, au sujet de l'O dit : « Toutes ces observations me portent à croire que les cellules qui constituent la paroi externe des organes respiratoires fonctionnent à la façon d'éléments glandulaires : elles absorbent une substance dans le milieu ambiant, l'élaborent et la cèdent, transformée, au milieu interne. Le passage de l'O ambiant dans l'organisme serait le résultat d'une succession de réactions chimiques : la méthode des injections de leuco-dérivés permet de mettre en évidence certains stades de ce passage. » Il y a aussi, ajoute l'auteur, des phénomènes d'ordre physique : « Théorie physique et théorie chimique ne s'excluent pas, mais se complètent l'une l'autre, et l'on peut dire que le passage de l'O ambiant dans l'organisme est un phénomène d'ordre physico-chimique. »

Il est curieux de constater que, depuis fort longtemps, on s'était aperçu que la théorie osmotique ne rendait pas compte des échanges cellulaires. C'est ainsi que E. MER, en 1877, présentait une note à la Société de Biologie au sujet de ses « Recherches sur l'absorption cutanée dans l'*Helix pomatia* ». Il a étudié l'action de l'eau, de quelques colorants, de divers sels, et enfin de matières organiques. Il conclut que la théorie osmotique n'explique pas les phénomènes constatés. « Il n'est possible, je crois, d'expliquer les phénomènes qui viennent d'être décrits, qu'en faisant intervenir l'action de la cellule vivante sur les liquides extérieurs et les combinaisons diverses qu'elle est susceptible de former avec les matières qui y sont dissoutes. »

C'est parce que la cellule épithéliale a pour l'eau une grande affinité, que ce liquide y pénètre si facilement... On doit donc réserver la théorie osmotique pour expliquer la pénétration des liquides à travers les membranes inertes, telles que celles qui constituent les parois des cellules végétales. Mais dès qu'ils s'agit d'interpréter l'absorption d'un liquide par le protoplasma vivant, ce sont alors les propriétés spéciales de ce protoplasma, qu'il faut faire intervenir. Et, l'on ne doit pas dans ce cas perdre de vue que ces propriétés varient suivant les cellules, et, pour une même cellule, suivant les substances en présence desquelles elle est placée et les conditions où elle se trouve. »

Plus récemment, L. LAPICQUE (1922-25-27) a montré que la « cellule » possède une pression osmotique plus élevée que celle du milieu extérieur. Il en conclut que la théorie classique des échanges par osmose ne rend pas compte des faits. « Je considère au contraire, comme assuré, que les échanges des cellules soit en eau, soit en substances dissoutes s'accomplissent par un travail physiologique où la diffusion et la pression osmotiques interviennent plus souvent comme résistance que comme force agissante. »

Dans son cours de 1926 (troisième partie), après avoir rappelé que HEIDENHAIN (1894) et CONHEIM (1895) ont attiré l'attention sur l'impossibilité pour la théorie osmotique d'expliquer certains faits, il compare les cellules intestinales à des cellules glandulaires, les premières puisant les substances dissoutes à l'extérieur, et les secondes dans le sang.

C'est exactement l'idée que j'ai admise et celle de PAUL RÉMY au sujet des cellules qui constituent la paroi externe des organes respiratoires, ainsi que nous l'avons vu plus haut.

c) Comment pouvons-nous nous représenter le protoplasma épithélial des branchies de l'Huître et ses réactions ?

Nous avons vu que l'absorption résultait des réactions physico-chimiques entre le protoplasma et les substances dissoutes du milieu extérieur. Le résultat de l'absorption d'une substance est la formation, au sein du protoplasma épithélial, d'une granulation qui représente la combinaison d'une partie de l'une de ses phases avec la substance.

Le protoplasma nous apparaît ainsi primitivement comme microscopiquement homogène. Est-il *in vivo* à un moment donné parfaitement homogène? Non, sans quoi, il ne vivrait pas, il ne présenterait pas d'échanges avec le milieu extérieur. Cependant les granulations qui rompent l'homogénéité ont pour origine une portion de l'une des phases du complexe qui les entoure et elles sont susceptibles d'y revenir. Le protoplasma doit donc être considéré en définitive comme un complexe instable dont les éléments présentent des affinités différentes pour l'eau et les substances qui y sont dissoutes. Doit-on le considérer comme un mélange? Je crois que toutes ses réactions conduisent à le considérer comme une véritable combinaison. PRENANT, BOIN et MAILLARD, dans leur *Traité d'histologie* (p. 19) disent : « On sait aussi qu'il ne suffirait pas de faire de toutes ces choses un mélange fortuit et quelconque, mais que la production du protoplasma et l'arrangement de ses molécules constituantes devraient être déterminés par les lois mêmes qui régissent les mélanges chimiques ; car le protoplasma, dans ses réactions vis-à-vis des influences extérieures, se comporte comme un complexe chimique entier, comme une matière homogène et une. »

La dissociation du complexe et sa reconstitution constituent toute l'activité du protoplasma. Ces deux phénomènes sont simultanés et même intimement liés. L'un entraîne l'autre

et inversement. Le protoplasma est en équilibre dynamique comme le dit si bien L. LAPICQUE (cours 1926). Il n'y a pas d'entité morphologique dans le protoplasma.

Les granulations formées finissent par rompre l'homogénéité du protoplasma qui se scinde, simple phénomène physique : une gouttelette protoplasmique en résulte. Elle entraîne les granulations dans le sang. C'est ainsi que se forme l'amœbocyte.

Nous avons vu que l'eau en excès dans le milieu dissocie progressivement le complexe protoplasmique en se fixant sur l'un de ses éléments. On peut comprendre par là l'action de l'eau dans d'autres cas. L'eau en s'unissant à l'un des éléments libère l'autre qui peut alors fixer d'autres substances, en particulier l'oxygène et les oxydations se poursuivent. Inversement l'absorption peut utiliser en partie le lipoïde et libérer ainsi l'élément qui s'hydrate, d'où absorption d'eau. On saisit ici comment le lipoïde peut régler l'imbibition.

C'est par l'examen biologique expérimental du protoplasma appuyé sur les résultats globaux qu'on arrivera à résoudre les hypothèses que posent l'examen de ces derniers.

Si nous faisons agir longuement l'eau sur l'amœbocyte nous avons vu que les divers éléments s'isolent complètement, les granulations sont expulsées, le noyau reste dans la gouttelette claire. C'est la mort du protoplasma qui arrive, sans doute lorsque la reconstitution du complexe n'est plus possible à partir de ses éléments dont la dissociation a été trop poussée. Il y a probablement une limite de la dissociation. Cette limite doit être atteinte dans l'œuf et les tissus où le noyau est apparent *in vivo*. Le noyau apparaît lorsque les éléments du complexe avec lesquels il est intimement lié s'isolent par suite de leur combinaison avec les substances absorbées, les matières de réserve dans le cas de l'œuf.

L'œuf est à la limite de la dissociation. Il ne vit pas, mais il n'est pas mort. Le spermatozoïde libère probablement une partie des phases isolées qui peuvent ainsi à nouveau participer aux échanges avec le milieu extérieur. Le complexe protoplasmique se reforme, la vie reprend.

Ces considérations appuyées sur mes observations trouvent une confirmation dans la belle étude de V. RUZICKA sur le métabolisme morphologique du protoplasma vivant. Voici des extraits du résumé qu'en donne J. STROHL dans l'année biologique de 1906.

« A l'aide de sa méthode de coloration vitale et léthale et basé sur nos connaissances actuelles de la structure du protoplasma, du noyau, du centrosome, etc., l'auteur établit que toutes ces formations différentes naissent en certains cas du protoplasma non différencié et peuvent retourner à ce même état : il y a métabolisme morphologique du plasma, c'est-à-dire que le protoplasma est capable de transformations morphologiques autonomes. RUZICKA cite entre autres l'observation faite par lui sur une amibe, dont le noyau bien net d'abord se perdit dans le protoplasme, ne laissant qu'une trace diffuse de sa coloration rouge neutre et réapparut ensuite sous une autre forme. Toute différenciation du protoplasme est donc capable de se transformer en protoplasma non différencié et celui-ci est à même de se transformer en chacune des différenciations protoplasmiques. Chacun des états morphologiques semble étroitement rattaché à un état chimique spécial. »

RÉSUMÉ ET CONCLUSION

PREMIÈRE PARTIE



I. — a) Il est définitivement établi que le pigment du *Navicula Ostrearia* Bory est l'origine du verdissement des Huitres.

b) Le pigment du *Navicula Ostrearia* Bory est acquis et non spécifique.

Cette Navicule est normalement planctonique et dépigmentée. Elle devient benthonique par chimiotactisme lorsque, sur le fond, se trouve une substance organique, un sucre.

Ce sucre se rencontre tout particulièrement sur les fonds Huitriers où le mucus, glycoprotéide, sécrété par les Huitres est scindé par les bactéries et le sucre libéré.

Des Navicules pigmentées ont été trouvées sur des Algues (*Liebmannia* ; *Padina*). D'autres Diatomées épiphytes présentent une coloration particulière lorsque l'Algue ou la plante aquatique qui leur sert de support présente une activité exceptionnelle due à la richesse du milieu en matières organiques dissoutes. Ces faits semblent indiquer que les Algues-supports excrètent, dans ce cas, une substance sucrée dans le milieu extérieur.

Aux dépens du sucre qu'elle absorbe dans la nature ou qu'on peut lui faire absorber artificiellement dans des cultures (Glycérine, amidon, glycogène, surtout), le *Navicula Ostrearia* fabrique une substance huileuse (sous forme de gouttelettes dans son protoplasma ou intégrée à ce dernier) qui est le support du pigment bleu. Celui-ci résulte d'une simple transformation du pigment de l'endochrôme.

Cette substance huileuse pigmentée est excrétée. Elle est soluble dans l'eau à laquelle elle communique une teinte verte par suite d'un changement dans la réaction du milieu.

Le pigment produit abondamment dans ces conditions ne joue aucun rôle dans la Navicule. Il est plutôt nuisible à cette dernière. Il nous apparaît alors comme le résultat du métabolisme des sucres dans la cellule végétale et, plus exactement, comme le résultat de leur utilisation par cette cellule. C'est un des produits résultant d'une réaction chimique ; certains de ces derniers peuvent être utilisés secondairement. Le pigment est un produit de déchet.

On sait que l'anthocyane est aussi un produit du métabolisme des sucres accumulés dans la plante.

Un très grand nombre de faits et en particulier sa formation à l'obscurité en présence de sucres chez des Algues unicellulaires, établissent d'une façon à peu près certaine que la chlorophylle elle-même est le résultat du métabolisme des sucres dans les végétaux.

On peut se demander si elle ne serait pas également le résultat de l'utilisation des sucres.

A la lumière d'un certain nombre de constatations, on tend à lui faire jouer un rôle de moins en moins grand dans la photosynthèse. On est arrivé à une conception purement physique du rôle de la chlorophylle dans l'assimilation : elle interviendrait seulement comme sensibi-

lisateur optique. La synthèse des sucres par la plante est considérée désormais comme le résultat de l'action chimique de certaines radiations sur le protoplasma végétal.

Comme on ne voit pas quel rôle elle pourrait jouer alors à l'obscurité on peut se demander si la chlorophylle n'est pas une simple substance de déchet provenant de l'utilisation des sucres, produit de la photosynthèse par la plante.

Toutes les Diatomées, dans la nature ou expérimentalement au laboratoire, fabriquent aux dépens du CO_2 qu'elles assimilent ou de matières organiques jouant le même rôle, qu'elles absorbent, une substance huileuse se présentant en gouttelettes. Celles-ci sont incolores ou pigmentées de la même façon que l'endochrôme. Le *Navicula Ostrearia*, où le pigment est différent, fait seule exception.

Dans tous les cas, cette substance huileuse est excrétée dans l'eau extérieure où elle est soluble.

Cette excrétion d'un sucre ou d'une substance huileuse dans l'eau est-elle le résultat d'un phénomène accidentel ou résulte-t-elle du métabolisme normal des Algues? Telle est l'hypothèse à laquelle conduisent les faits dont j'ai établi le déterminisme.

Les calculs de PÜTTER tendent à établir que le métabolisme normal des Algues conduit à une excrétion de sucre ou de toute autre substance dans l'eau. Récemment, deux auteurs arrivent aux mêmes conclusions avec quelques réserves cependant sur les rapports. Beaucoup d'autres discutent leurs calculs.

Les faits que je signale apportent un appui solide à la théorie de PÜTTER, mais ne la résolvent pas.

c) Le déterminisme de la marche du verdissement des Huitres est établi d'une façon définitive.

Les Huitres sont pigmentées au niveau des branchies, des palpes, de l'intestin et quelquefois du bord du manteau.

Le verdissement des épithéliums de ces organes n'est pas dû à une absorption intestinale du pigment suivie d'une excrétion leucocytaire. Il est le résultat d'une absorption directe à leur niveau de la substance huileuse pigmentée en solution dans l'eau.

e) Le protoplasma épithélial présente une zone distale claire, puis une zone pigmentée présentant une teinte générale verte en même temps que de petites granulations de la même couleur. Dans sa partie basale on trouve uniquement des granulations vertes plus ou moins groupées. Elles sont plus grosses que les précédentes.

Ces grosses granulations vertes, après avoir traversé l'épithélium passent dans le sang où on les trouve englobées dans des amœbocytes. Le pigment est excrété sous forme de granulations brunes au niveau du foie, mais surtout de la glande des oreillettes.

d et f). L'absorption du pigment vert de la Navicule a lieu de la même façon et présente la même disposition dans les épithéliums absorbants, chez tous les Lamellibranches, les Gastéropodes, mais aussi chez des Actinies, un Plathelminthe, une Astérie et des Annélides. Chez les Copépodes il y a bien absorption directe par la surface extérieure du corps, mais les gouttelettes huileuses restent apparentes dans l'hypoderme. Ici on peut constater la mise en charge rapide de la substance pigmentée dans les oocytes. Les œufs sont colorés en vert d'une façon homogène. Lorsque l'embryon se développe, des granules pigmentés de déchet s'isolent.

Les Copépodes présentent les mêmes phénomènes dans une culture de Diatomées brunes ; seule la couleur change.

Chez *Carcinus mænas* le pigment vert du *Navicula Ostrearia* joue certainement un rôle

dans la couleur de l'hypoderme et de la carapace, mais il reste à établir la voie de l'absorption de la substance huileuse verte dans ce cas.

II. — Il est établi expérimentalement que les Huitres peuvent absorber directement par leurs branchies les sels de fer en solution dans l'eau.

Dans la nature, de l'absorption directe de ces sels, à divers états dans les argiles des fonds, il résulte des pigmentations variées des Huitres qui y sont déposées. On trouve ainsi des Huitres brunes, « côtes rouges », bleues ou bleu-vert, et enfin partiellement noires.

Deux auteurs ont signalé, dans des endroits différents, la pigmentation des branchies des Huitres par le pigment rouge du *Rytypylæa*.

Enfin j'ai constaté dans la nature l'absorption par les branchies et le manteau des Huitres de matière organique pigmentée provenant de la décomposition de plantes aquatiques (*Ruppia maritima* L.).

Le déterminisme de la voie par laquelle est absorbé le rouge neutre et divers autres colorants par l'Huitre est également établi. Elle est exactement la même que pour le verdissement. L'absorption est directe au niveau des branchies, des palpes, du manteau et de l'intestin.

Pour d'autres colorants il n'y a qu'une partie du sel qui est absorbée.

Le rouge neutre se présente sous forme de granulations rouges dans le protoplasma épithélial. Elles le traversent et arrivent dans le sang où on les trouve englobées dans des amœbocytes. J'ai assisté sous le microscope à leur passage à travers l'épithélium palléal et à leur chute dans les lacunes sanguines.

L'absorption de l'eau facilite celle du rouge neutre. Mais cette dernière est surtout rendue plus rapide par celle de l'oxygène. J'ai attiré l'attention sur le fait qu'elle a lieu par la même voie.

Un excès d'oxygène provoque l'absorption presque instantanée d'une quantité considérable de rouge neutre qui passe immédiatement dans le sang. Il y a simultanément production exagérée d'amœbocytes dans lesquels sont englobées les granulations rouges. C'est une leucocytose.

Le rouge neutre du sang est excrété au niveau du foie, de l'organe de Bojanus, mais surtout des glandes des oreillettes sous forme de grains rose-violacé.

J'ai montré ensuite que l'absorption de substances organiques variées (benzidine, aniline, coaltar, huile ordinaire seule ou colorée, lait, jaune d'œuf, matières albuminoïdes, amidon, sucres), en solution dans l'eau, par les Huitres avait lieu par la même voie et que, dans tous les cas, comme pour les substances étudiées précédemment, le premier résultat visible de cette absorption directe était l'apparition de granulations dans le protoplasma épithélial.

L'absorption de certaines matières organiques qui pénètrent dans le sang, provoque la formation d'un nombre anormal d'amœbocytes qui se réunissent en amas dans les lacunes sanguines du manteau et aussi dans les oreillettes du cœur. Il y a leucocytose ou « leucocytosis » des auteurs anglais.

Les amœbocytes sont bourrés de la substance absorbée et prennent des couleurs variées suivant la nature de celle-ci.

La leucocytose naturelle connue sous le nom de « green leucocytosis » n'est pas due à l'absorption de cuivre par les Huitres, pas plus qu'à une maladie de celles-ci. Elle est due, sans aucun doute, à l'absorption tant intestinale que par la surface extérieure du corps de matières organiques dont la nature reste à déterminer.

III. — CHURCHILL a établi expérimentalement que les Moules d'eau douce absorbent

par la surface extérieure de leur corps des substances grasses, albuminoïdes ou de l'amidon en solution dans l'eau.

LUND, PETERS et LWOFF ont montré que des Protozoaires en culture pure se développaient uniquement aux dépens de substances dissoutes.

Les grenouilles, d'après PRZYLECKI, absorbent, par toute la surface extérieure de leur corps, des produits de désintégration des protéines en solution dans l'eau.

Enfin, d'après KOSTOMAROV et CHOMKOVIC, les Poissons eux-mêmes absorbent par leurs branchies et par toute la surface de leur peau des substances organiques en solution.

Si on remarque que dans le tube digestif aussi bien que dans la vacuole du Protozoaire, les substances introduites ne sont absorbées qu'après avoir été solubilisées on peut conclure que l'absorption de substances dissoutes est une propriété particulière à tout protoplasma. C'est la seule forme sous laquelle la nourriture y pénètre réellement.

Et, comme le phénomène est constaté depuis les Protozoaires jusqu'aux Poissons, on peut se demander si le protoplasma le plus différencié n'a pas, lui aussi, cette propriété? Le degré de désintégration des substances susceptibles d'être absorbées devrait alors être poussé de plus en plus loin à mesure que s'accroît la différenciation du protoplasma.

IV. — La nourriture susceptible d'être introduite dans le tube digestif chez les animaux aquatiques est-elle normalement insuffisante pour couvrir leurs besoins nutritifs?

Ce qui est absorbé par la surface extérieure du corps constitue-t-il un complément normal indispensable? Telle est l'hypothèse à laquelle nous conduisent les faits que j'ai rapportés.

La première question a servi, au contraire, de point de départ à PÜTTER. Ses calculs l'ont entraîné à y répondre positivement. Il a émis alors l'hypothèse d'une absorption de substances dissoutes par la surface extérieure du corps.

Des auteurs ont approuvé ses vues mais indirectement. Ceux qui ont suivi la même méthode que lui ont critiqué ses calculs.

Les faits que j'apporte appuient fortement les théories de PÜTTER, mais le problème initial posé par ce dernier, qui doit être résolu par une méthode différente, ne l'est pas encore.

V. — Je rappelle que l'absorption par la surface extérieure du corps est souvent accompagnée de pigmentations cutanées (passagères ou durables). Parmi celles dont j'ai établi le déterminisme les unes ont une origine végétale, les autres sont provoquées par les sels de fer à divers états dans les argiles des fonds.

J'attire l'attention sur l'importance de l'étude des Diatomées pour la question des pigments.

Cette voie de la pigmentation n'a pas encore été envisagée. Sans aucun doute, d'autres cas s'expliqueront de la même façon. L'homochromie fixe ne supportera plus, ici tout au moins, d'explications finalistes.

DEUXIÈME PARTIE



a) L'absorption de l'oxygène (respiration) n'est qu'un cas particulier de celle des substances en solution dans l'eau. Comme pour ces dernières, sa pénétration dans le protoplasma épithélial y provoque la formation d'une granulation sur laquelle il se fixe.

L'absorption de l'eau y provoque la formation d'une gouttelette.

Donc, même dans ces cas, le protoplasma épithélial est actif. Les substances absorbées ne le traversent pas sans changement.

Les granulations apparaissent dans le protoplasma épithélial au moment où des substances extérieures y pénètrent. C'est un complexe formé d'une partie protoplasmique et de la substance absorbée.

Il en est exactement de même pour la gouttelette, mais ici il n'y a que l'eau absorbée qui est susceptible de provoquer sa formation.

On ne peut plus se contenter de l'explication classique suivante : les amœbocytes pénètrent dans l'épithélium, y prennent par phagocytose les substances absorbées et, en retournant dans le sang, les transportent aux divers organes.

Les faits montrent que les granulations qui se forment sur place dans l'épithélium provoquent, par leur groupement et en rompant l'homogénéité du protoplasma, la formation, également au même endroit, d'une gouttelette protoplasmique chargée ainsi de substance étrangère en liaison avec un élément également protoplasmique.

En admettant le même mécanisme pour l'absorption intestinale, certains faits rapportés par divers auteurs s'expliqueraient fort bien.

L'eau diluée rend amœboïde un amœbocyte immobile. Si l'action continue on assiste au gonflement progressif de ce dernier. Ses granulations d'abord immobiles s'agitent de plus en plus et enfin lorsque l'amœbocyte a atteint son gonflement maximum, elles sont brusquement expulsées à l'extérieur où elles se dispersent. Sous cette action les éléments protoplasmiques se sont isolés : l'un d'eux constitue la grosse gouttelette claire qui en contient un second, le noyau ; les granulations expulsées forment le troisième.

Il n'y a pas eu gonflement et éclatement d'une outre, mais uniquement imbibition d'une substance par l'eau douce. *L'amœbocyte n'a pas de membrane externe.*

Ce phénomène d'imbibition est le résultat de l'affinité chimique de l'un des éléments du protoplasma pour l'eau.

Cette action est à rapprocher de celle du même élément sur le globule rouge.

Dans l'amœbocyte toutes les substances extérieures, en dehors de l'eau, se fixent sur les granulations et jamais sur la phase qui s'hydrate. On s'explique ainsi ce qui se passe dans le protoplasma épithélial lors de l'absorption. C'est là le résultat des affinités chimiques différentes des phases du protoplasma.

Toutes les substances extérieures absorbées (même l'O et l'eau) arrivent dans le sang à l'état de combinaison protoplasmique.

La granulation est certainement un complexe. Lorsqu'elle est expulsée du leucocyte, elle libère un acide dans le milieu extérieur.

La granulation est le lieu des désintégrations et des synthèses. C'est probablement un complexe lipo-protéique.

Sur l'élément qui s'hydrate, en dehors de l'action de l'eau, je n'ai obtenu aucune autre réaction positive.

b) L'absorption par l'épithélium externe est le résultat de réactions physico-chimiques entre les substances du milieu extérieur et le protoplasma épithélial.

Ce dernier ne joue pas le rôle d'une simple membrane, mais le résultat de son activité peut être le même.

c) Le protoplasma apparaît comme primitivement homogène. Toute substance (en dehors de l'eau) étrangère qui y pénètre, par réaction physico-chimique, y provoque la formation de granulations dont le groupement rompant son homogénéité provoque par un simple phénomène physique la formation d'une gouttelette les englobant. L'ensemble constitue l'amœbocyte.

La dissociation du complexe et sa reconstitution forment toute l'activité du protoplasma. Il y a une limite à la dissociation au delà de laquelle la reconstitution n'est plus possible : c'est sa mort.

Dans le protoplasma homogène, une phase apparaît, sous une forme correspondant à sa nature chimique, lorsque les autres sont presque entièrement entrées en combinaison avec des substances étrangères.

C'est le cas de l'œuf et des tissus où le noyau est apparent *in vivo*.

L'œuf est à la limite de la dissociation. Il ne vit pas il n'est pas, mort. Le spermatozoïde libère probablement une partie des phases isolées qui peuvent à nouveau participer aux échanges. Le complexe protoplasmique se reforme, la vie reprend.

CONCLUSION

Ainsi, après avoir établi le déterminisme d'un phénomène biologique très spécial : la marche du verdissement des Huitres ; nous l'avons fait entrer dans un cadre plus général. Ce n'est en effet qu'un cas particulier de l'absorption de matières organiques dissoutes dans l'eau par la surface extérieure du corps des animaux aquatiques dont nous avons montré la possibilité.

Cette dernière n'est elle-même qu'un cas particulier de l'absorption protoplasmique. Tout protoplasma en contact avec une solution de substances dissoutes y puise certaines d'entre elles. Cette absorption est le résultat des réactions physico-chimiques (l'osmose doit être éliminée de celles-ci) qui ont lieu entre le protoplasma et ces substances extérieures.

*Laboratoire de Malacologie du Muséum national d'Histoire naturelle,
2 juillet 1927.*

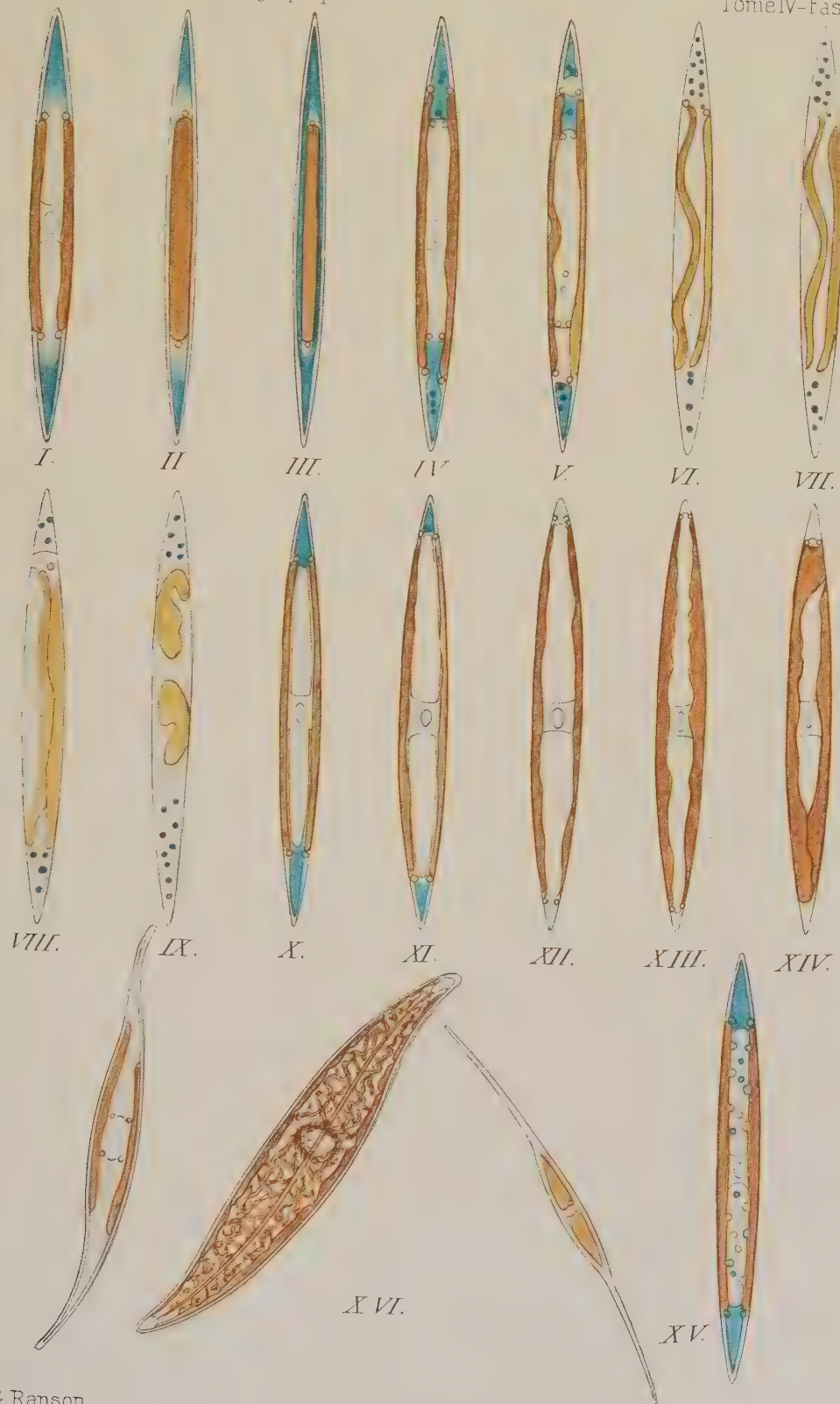
DIATOMÉES DU VERDISSEMENT (GR. 830)

I; II; III et XV. — *NAVICULA OSTREARIA* Bory, pigmenté. *État normal*
(*Nature et cultures*).

IV; V; VI; VII; VIII et IX. — *NAVICULA OSTREARIA* Bory, pigmenté. *État normal*
(*Stades successifs de la dégénérescence*).

X; XI; XII; XIII et XIV. — *NAVICULA OSTREARIA* Bory, pigmenté. *État normal*
(*Stades successifs de la dépigmentation normale*).

XVI. — *Trois des espèces de Diatomées que l'on trouve le plus fréquemment avec le*
NAVICULA OSTREARIA pigmenté.



G Ranson

Boudarel del.

BIBLIOGRAPHIE

I. — Verdissement des Huîtres et *Navicula ostrearia*

- ARTARI. — Ueber die Entwick. der grünen Algen. — *Bull. Soc. imp. des nat.*, Moscou, n° 5, 1899.
- BEIJERINGCK (M.-W.). — Das Assimilationsprodukt der Kohlensäure in den Chromatophoren der Diatomeen. *Recueil des trav. bot. Néerl.*, nos 1-4, 1904.
- BENECKE (W.). — Ueber farblose Diatomeen der kieler Föhrde. *Jahr. f. Wiss. bot.*, Bd 35, 1900.
- BIZIO. — Ricerche sopra il coloramento in verde delle branchie delle Ostriche (*Ostrea edulis* L.) derivante del rame Ch'esse contengono. *Mem. dell. J.-R. Istit. Veneto di sc. lett. ed arti*, vol. II, 1845.
- BLAINVILLE (DE). — Article Huître. *Dict. des Sc. nat.* de Levrault, vol. XXII, Paris 1821.
- BLAKE (J.-A.). — Report of the Commission appointed to inquire into the methods of oyster-culture in the United Kingdom and France with a view to the introduction of improved methods of cultivation of oysters into Ireland. Dublin, 1870.
- BOCAT (L.). — Sur la marennine de la diatomée bleue ; comparaison avec la phycocyanine. *C. R. Soc. biol.*, Paris, t. LXIII, 1907.
- BORNET (Ed.). — Le verdissement des Huîtres. *Bull. Soc. Nat. d'agr. de France*, t. LV, 1895.
- BORY DE SAINT-VINCENT. — Article Matière verte. *Dict. des Sc. nat.* de Levrault, vol. XXIX, Paris, 1823. — Article Matière verte. *Dict. class. Hist. nat.*, publié sous sa direction., vol. X, Paris, 1826.
- BOSC (L.-A.-G.). — Rapport concernant les nouvelles observations de M. GAILLON sur la cause de la coloration des Huîtres et sur les Animalcules qui servent à les nourrir. Institut, 1823.
- BRUYNE (DE). — Contribution à l'étude de la phagocytose. — *Arch. biol.*, t. XIV, 1845.
- CALVET (L.). — Sur la vitalité de la Diatomée bleue et la possibilité de l'ensemencement de cette Navicule à l'aide d'Huîtres vertes. *C. R. Soc. Biol. Paris*, t. LXVIII, 1910. — Contribution à l'étude du verdissement des Huîtres. *Bull. trim. Ens. techn. et prof. des Pêches maritimes*, 1909 (juillet-septembre).
- CALVET (L.) et PAUL (P.). — La Diatomée bleue et le verdissement des Huîtres dans les bassins de « l'Ostréiculture méridionale » à Balaruc-les-Bains (Hérault). *C. R. Soc. Biol.*, Paris, t. LXVI, 1909.
- CARAZZI (Dav.). — Contributo all'istologia e alla fisiologia dei Lamellibranchi. — Ricerche sulle ostriche verdi, *Mitth. zool. Stat. zu Neapel*, vol. XII, 1897.
- CHATIN (Ad.). — Le développement et le verdissement des Huîtres. *Bull. Soc. Nat. Agr. de France*, vol. LII, séances octobre et décembre 1892. — Nature et cause du verdissement des Huîtres, *Id.*, vol. LIII, 1893, et *C. R. A. S.*, Paris, t. CXVIII, 1894.
- CHATIN (J.). — Du siège de la coloration chez les Huîtres vertes. *C. R. A. S.*, Paris, t. CXVI, 1893. — Du siège de la coloration chez les Huîtres brunes, *C. R. A. S.*, Paris, t. CXX, 1895. — De la phagocytose chez les Huîtres. Sur les Macroblastes des Huîtres, leur origine et leur localisation. *C. R. A. S.*, t. CXXII, 1896.
- CHODAT. — Monographie d'Algues en culture pure. — Berne, 1913.
- COMBES R. — Rapports entre les composés hydrocarbonés et la formation de l'anthocyane. *Ann. Sc. nat. Bot.* 9^e série t. IX, 1909.
- COMERE (Joseph). — De la coloration anormale des Diatomées épiphytes. *Nuova Notarisia*, Série XX, 1909.
- COSTE. — Voyage d'exploration sur le littoral de la France et de l'Italie. — 2^e éd., Paris, 1861.
- DANGEARD (P.-A.). — L'Assimilation chlorophyllienne. *Le Botaniste*, 1^{re} partie, série XIV, fasc. I-II, 1921. 2^e partie, série XIV, fasc. III-IV, 1926. — Observations sur une Algue cultivée à l'obscurité depuis huit ans. *C. R. A. S.*, Paris, t. CLXXII, 1921.

- DEAN (Bashford). — The present Methods of Oyster-Culture in France. *Bull. of the U. S., Fish. Com.*, 1892.
— Report on the european Methods of Oyster-Culture., *Id.*, 1893.
- DYER (W.-T.). — Greening of Oysters. *Nature*, vol. XVI, 1877.
- FISCHER (Edouard). — Sur les fonctions de l'hépatopancréas des Crustacés. Les pigments d'excrétion. *C. R. Soc. Biol.*, Paris, t. XCVI, 1927.
- FUNK (G.). — Notizen über Meeresdiatomeen. — I, Ueber das Vorkommen, der blauen Diatomeen bei Neapel. *Ber d. d. Bot. Ges. Bd*, 37, 1919.
- GAILLON (Benjamin). — Des Huitres vertes et des causes de cette coloration. *Journal de Physique*, vol. XCI, 1820. — Essai sur les causes de la couleur verte que prennent les Huitres à certaines époques de l'année. *Actes Acad. Sc.*, Rouen 1820, et *An. Sc. physiques*, 1821. — Observations sur la cause de la coloration des Huitres et sur les Animalcules qui servent à leur nutrition. *Mém. Soc. lin. Calvados*, 1824.
- GAARDER (T.) et GRAN (H.-H.). — Investigations of the production of plankton in the Oslo Fjord. — Conseil permanent intern. expl. de la mer. *Rapports et P. V. des Réunions*, vol. XLII, 1927.
- GORKA (S.). — Ueber die Rolle der Kiemen und Mundlappen der heimischen Süsswassermuscheln bei der Ernährung. *Alatt. Közlem.*, Budapest, 15, 1916.
- GRUNOW (A.). — New Diatoms from Honduras with Notes by F. Kitton. *Month. micr. j.*, vol. XVIII, 1877.
- GUÉRIN (Joseph). — Notes préliminaires sur les gisements de Mollusques comestibles des côtes de France. 1^o Note : Les Côtes de la Charente-Inférieure. *Assoc. fr. Av. des Sc.*, Grenoble, 1904.
- HEINZERLING (Otto). — Der bau der Diatomeenzelle mit besondere Berücksichtigung der ergatischen Gebilde. *Bibliotheca botanica*, t. XV, 1908.
- HERDMAN (W. A.). — Report upon the Methods of Oysters and mussel-Culture in use on the west coast of France. *Proc. and. Trans. of the Liverpool biol. Soc.*, vol. VIII, 1894.
- JOURDAIN (S.). — Sur les causes de la viridité des Huitres. *C. R. A. S.*, Paris, CXVI, 1893.
- KARSTEN (G.). — Ueber farblose Diatomeen Flora, LXXXIX, 1901.
- KOHN (Charles). — Note on occurrence of iron and Copper in Oysters. *Rep. of Oyster. Commitee to Brit. Assoc. for. Adv. of Sc.*, 1898.
- LANKESTER (E.) RAY. — On green Oysters. *Quat. j. micr. Sc.*, vol. XXVI, 1886. Phagocytes of Green Oysters, *Nature*, vol. XLVIII, 1893. — Green oysters, *Nature*, vol. LXX, 1895.
- LAUTERBORN. — Untersuchungen über Bau, Kernteilung und Bewegung der Diatomen, Leipzig, 1896.
- LUDERS (J.). — Beobachtungen über die Organisation Teilung und Kopulation der Diatomen. *Bot. zeit*, Bd. XX, 1862.
- LWOFF. (A.). — Un carotinoïde, pigment oculaire des Copépodes. Son origine et son évolution pendant Pontogénèse. *C. R. Soc. Biol. Paris*, t. XCIII, 1925.
- MANGIN (L.). — Observations sur les Diatomées. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 9^e série, t. VIII, 1908.
- MARCHAND (H.). — Recherches physiologiques sur la moule comestible de Provence (*Mytilus Gallo-provincialis* L.) et sur la Mytiliculture en Méditerranée. *Thèse Lyon*, 1916.
- MERESCHKOWSKY (C.). — Etudes sur l'endochrôme des Diatomées. *Mém. Acad. Imp. Sc. Saint-Petersbourg*, 1901. — Les types de l'endochrôme chez les Diatomées. *Scripta botanica horti. Univ. Petropol.*, XXI, 1903. — Zur Morphologie der Diatomeen, Kasan, 1903. — Ueber farblose pyrénoloïde und gefarbte Elaeoplasten der Diatomeen Flora, 1903.
- MIQUEL (P.). — De la culture artificielle des Diatomées. *C. R. A. S. Paris*, t. CXIV, 1892, et le *Diatomiste*, nos 9, 10, 11, 12, 1892 ; *Annales de micrographie*, 4, 1891-1892 ; 5, 1893.
- MITCHELL (P.-H.) et BARNEY (R.-L.). — The occurrence in Virginia of Green-Gilled-Oysters similar tho those of Marennes. *Bull. U. S. B. F.*, vol. XXXV, 1915-1916.
- MATRUCHOT (L.) et MOLLIARD (M.). — Variation de la structure d'une algue verte, le *Stichococcus bacillaris* sous l'action des divers milieux. *C. R. A. S. Paris*, t. CXXXI, 1900. — Sur les variations d'une Algue verte sous l'influence du milieu nutritif. *Rev. gén. Bot.*, t. XIV, 1902.
- MOLLIARD (M.). — Action morphogénique de quelques substances organiques sur les végétaux supérieurs. *Rev. gén. Bot.*, t. XIX, 1907. — Nutrition de la plante ; t. II, Formation des Substances ternaires, Doin, 1921 ; t. III, Utilisation des Substances ternaires, Doin, 1923.

- MOLISCH (Hans). — Notiz über eine blaue Diatomee. *Ber. d. d. Bot. Ges.*, vol. XXI, 1903.
- OLTMANN (Fr.). — Morphologie und Biologie der Algen. *Bd I et III. Jena*, 1922.
- PELSENEER (Paul). — La phagocytose défensive chez les Huitres vertes. *Bull. Soc. roy. Malac. de Belgique*, t. XXVIII, 1892.
- PETERSEN (C. G. John). — « Grüne Austern » in Dänemark in 1911-1912. *Intern. Rev. Hydrobiol. und Hydrogr.* Bd. VII, 1914.
- PFITZER (E.). — Die Bacillariaceen (Diatomaceen), in *Handb. der Bot.*, t. II ; Breslau, 1882.
- PÜTTER (A.). — Der Umfang der Kohlensäurereduktion durch die Plankton Algen. *Pfluger's Archiv. f. die ges. Phys. Menschen und der Tiere*, Bd CCV, 1924.
- PUYSÉGUR (M.). — Notice sur la cause du verdissement des Huitres. *Rev. Marit. et col.*, vol. LXIV, Paris, 1880.
- RANSON (Gilbert). — Note préliminaire sur le verdissement des Huitres. *Bull. Soc. Zool. France*, t. XLIX, 1924. — Le verdissement des Huitres. *C. R. A. S. Paris*, t. CLXXX, 1925. — Le verdissement des Huitres. *C. R. Soc. Biol. Paris*, t. XCIII, 1925. — La filtration de l'eau par les Lamellibranches et ses conséquences. *Bull. Inst. Océan. Monaco*, n° 469, 1926. — Observations sur le *Navicula Ostrearia* Bory, origine du verdissement des Huitres. *Revue algologique*, t. III, 1926.
- ROUSSEAU (Ph.). — Catalogue des Mollusques de l'Île de Ré. *Bull. Soc. Sc. Nat. de l'Ouest de la France*, 1896.
- RYDER (J.-A.). — On the cause of the greening of Oysters by M. Puységur with a supplementary Note on the coloration of the blood corpuscles of the Oyster. *U. S. C. of Fish and Fisheries*. Washington, 1884.
- SAUVAGEAU (C.). — A propos de la présence de la Diatomée bleue dans la Méditerranée. *Bull. Stat. biol. Arcachon*, 1906. — Sur le verdissement expérimental des Huitres. *C. R. Soc. Biol. Paris*, t. LXII, 1907. — Le verdissement des Huitres par la Diatomée bleue. *Bull. Stat. Biol. Arcachon*, 1907. — Utilisation des Algues marines, Doin, 1920.
- SHAUGHNESSY (O^r). — On green Oysters. *Ann. and Mag. Nat. Hist.* 3^e série vol. XVIII, 1866 et *Amér. J. of Conchology*, vol. III, 1887.
- SPÄRCK (R.). — Studies on the Biology of the Oyster (*Ostrea edulis*) in the Limfjord with special reference to the influence of temperature of the sex change. *Rep. Danish Biol. Stat.*, vol. XXX, 1924-25.
- SPRAT (Thomas). — The history of the generation and ordering of green Oysters, commonly called Colchester Oysters. *History of the Roy. Soc. Londres*, 1669. Edition en français, Genève, 1669.
- VALENCIENNES (A.). — Sur les causes de la coloration en vert de certaines Huitres. *C. R. A. S. Paris*, t. XII, 1841.
- WURMSER (R.). — L'action de la lumière sur la chlorophylle colloïdale en présence de stabilisateurs. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, 1920. — Recherches sur l'assimilation chlorophyllienne. *Arch. physique biol.*, I, 1921. — Le rendement énergétique de la photosynthèse chlorophyllienne. *Ann. de physiologie et de physico-Chimie biol.*, t. I, 1925.
- YONGE (C.-M.). — Structure and Physiology of the Organs of Feeding and Digestion in *Ostrea edulis*. *Journ. of the Marine Biol. Assoc. of the U. K.*, vol. XIV, 1926.

II. — Absorption de matières organiques dissoutes par la surface extérieure du corps et Théorie de Pütter

- BLEGVAD (H.). — Food and conditions of Nourishment among the Communities in invertebrate animals on or in the sea bottom, in Danish waters. *Rep. Danish Biol. Stat.*, t. XXII, 1914.
- BOYCE (R.-W.). — And Herdman W. A. — On Oysters and Thyphoid : an experimental Inquiry into the effect upon the Oyster of various external conditions including pathogenic organisms. *Rep. of the Brit. Assoc. for Adv. of Sc.*, 1895. — The possible infectivity of the Oyster and upon the green Disease in Oysters. *Rep. of the Brit. Assoc. for Adv. of Sc.*, 1896. — On a green Leucocytosis on Oysters associated with the presence of Copper in Leucocytes. *Proc. of the Roy. soc. of London*, vol. LXII, 1898.

- CARAZZI (D.). — Contributo all'istologia e alla fisiologia dei Lamellibranchi. — Ricerche sull' assorbimento del ferro nell' *Ostrea edulis* L. *Journ. intern. anat. et physiol.*, t. XIV, 1897.
- CHOMKOVIC (G.). — Studien über die Funktion der im wasser gelösten Nährsubstanzen im Stoffwechsel der wassertiere : Ueber die Permeabilität der haut bei Fischen für Lösungen von organischen Nährsubstanzen glucose, saccharose, pepton. *Pflüger's Archiv. f. die ges. physiol. des Menschen und der Tiere*, Bd. CCXI, 1926.
- CHURCHILL (E.-P.). — The absorption of Fat by freshwater Mussels. — *Biol. Bull.*, Woods Hole, vol. XXIX, 1915. The absorption of Nutriments from solution by freshwater Mussels. *Journ. of exp. zool.*, vol. XXI, 1916.
- CHURCHILL (E.-P.) et LEWIS (Sara). — Food and Feeding in freshwater Mussels. *Bull. U. S. B. of Fish*, vol. XXXIX, 1923-1924.
- DAKIN (W.-J.). — Notes on the alimentary canal and food of the *Copepoda*. *Intern. Rev. d. ges. Hydrob. und Hydrogr.*, 1908. — Aquatic animals and their environment-*Id.*, 1912. — The oxygen requirements of certain aquatic animals and its Bearing upon the source of Food supply. *Brit. journ. of Exper. Biology* ; vol. II, 1925.
- DESCOUTS. — Sur les causes de la coloration violacée des Huitres dans le Bassin d'Arcachon. *C. R. A. S. Paris*, t. LXXXV, 1877.
- GIARD (Alfred). — Sur la prétendue nocivité des Huitres. Rapport présenté au ministre de la Marine au nom du Comité consultatif des Pêches maritimes. *Bull. Scient. France et Belgique*, vol. XXXIX, 1905.
- HENZE (M.). — Bemerkungen zu den Anschauungen Pütter's über den gehalt des Meeres an gelösten für den Stoffhaushalt des Meeres. *Arch. f. d. ges. Physiol.* t. CXXIII, 1908.
- HERDMAN (W. A.). — Investigations on Oysters and Disease. *Proc. and Trans. of the Liverpool Biol. Soc.*, vol. X, 1895-96. — The green colouration and « green Disease » in Oysters. *Lancashire Sea Fisheries Laboratory*, 1896. — Oyster investigation. *Id.*, 1896-1900.
- HERDMAN (W.-A.) et BOYCE (R.-W.). — Life conditions of the Oyster : Normal and Abnormal. *Rep. of the Brit. Assoc. for Adv. of Sc.*, 1897. — Observations upon the Normal and pathological Histology and Bacteriology of the Oyster. *Proc. of the Roy. soc. of London*, t. LXIV, 1899 et *Nature*, 1899.
- HERDMAN (W.-A.), BOYCE (R.-W.) et KOHN (Charles). — Life conditions of the Oyster : Normal and abnormal. *Rep. of the Brit. Assoc. for Adv. of Sc.*, 1898 (1899).
- JOUBIN (L.). — Expériences sur l'alimentation artificielle des Huitres et des Moules en bassin, 1921 (Inédite.)
- KERB. — Ueber den Nährwert der im wasser gelösten Stoffe. *Rev. d. ges. Hydrobiol. und. Hydrogr.*, Bd III, 1911.
- KNÖRRICH. — Studien über die Ernährungsbedingungen des Daphnien. *Plöner Berichte* ; teil VIII, 1901.
- KOHN (Charles). — The green colouration and « green Disease » in Oysters. *Lancashire sea Fisheries Laboratory*, 1896.
- KOSTOMAROV (Boris). — Can the Carp-Fry utilize Nutritive substances dissolved in water? *Bull. Acad. Tchecoslovaque d'Agric.*, II, 1926.
- KRIZENECKY (Jaroslav). — Ueber die nutritive Bedeutung der im wasser aufgelösten organischen Substanzen für die wassertiere. *Arch. f. Hydrobiol.*, Bd, XVI, 1925. — Untersuchungen über die Assimilations Fähigkeit der Wassertiere für im wasser gelöste Nährstoffe. *Biologia generalis*, vol. I, 1925. — Ueber eine wachstumsteigernde Wirkung der im wasser gelösten Nährstoffe bei den Wassertieren. *Id.* vol. I, 1925. — Zur Frage der Ernährung von Amphibien-Larven durch im wasser gelöste Nährstoffe. *Zool. Anzeiger*, Bd. LXII, 1925.
- KRIZENECKY (Jaroslav) et PODHRADSKY (Jan). — Studien über die Funktion der im wasser gelösten Nährsubstanzen im Stoffwechsel der wassertiere : I. Mitteilung.— Die gelösten Substanzen als einzige Nährstoffquelle und die Rolle der kohlenhydrate und Eiweisssubstanzen im stoffwechsel der Froschkaulquappen. *Pflüger's Archiv. f. die ges. physiologie des Menschen und der Tiere*, Bd. CCIII, 1924. — II. *Idem.* — Ueber die Assimilationsfähigkeit der Froschkaulquappen für den Harnstoff. — III. *Idem.* — Zur näheren kenntnis der wachstumsteigernden Wirkung im wasser gelösten Nährsubstanzen unter normaler Fütterung mit geformter Nahrung. — IV. *Idem.* — Die Bedeutung des Harnstoffes in der Wachstumsteigernden Wirkung gelösten Nährstoffe unter Ernährung mit geformter Nahrung bei Froschkaulquappen. *Id.*, Bd. CCIV, 1924. — V. *Idem.* — Die Rolle der Reizung der Darmwand durch Ballaststoffe bei der Assimilation gelösten Nährstoffe. *Id.* Bd. CCVII, 1925.

- LIPSCHUTZ. — Zur Frage über die Ernährung der Fische. *Zeit. f. Allg. physiol.*, Bd. XII, 1910.
- LOHMAN (H.). — Ueber die Quellen der Nahrung der meerestiere und Pütter's Untersuchungen hierüber. *Intern. Rev. d. ges. Hydrobiol. und Hydrogr.*, t. II, 1909.
- LUND (E.-J.). — The Relations of *Bursaria* to food : I. Sélection in feeding and in extrusion. *Journ. exp. Zool. Philadelphia*, t. XVI, 1914. — II. Digestion and resorption in the food vacuole and further analysis of the process of extrusion. *Id.*, t. XVII, 1914.
- LWOFF (André). — Sur la nutrition des Infusoires. *C. R. A. S. Paris*, 1923.
- MEREJKOWSKI. — On an Anomaly among the Hydromedusæ and their mode of nutrition by means of the ectoderm. *Ann. and Mag. of Nat. Hist.*, 1879. — Etude sur les Eponges de la Mer Blanche. *Mém. Acad. Sc. Saint-Petersbourg*, 1879.
- MITCHELL (P.-H.). — Nutrition of Oysters, glycogen formation and storage. *Bull. U. S. B. of Fish.*, t. XXXV, 1915-16.
- MOORE, WHITLEY, EDIE et DAKIN. — The nutrition and metabolism of marine animal in relation-ship to : a) dissolved organic matter ; b) particulate organic matter in sea water, *Bioch. journ.*, vol. VI, 1912. — The nutrition, metabolism and respiration of Aquatic animals. *Rep. of Brit. Assoc. Adv. of Sc.*, 1912.
- MOORE, EDIE et WHITLEY. — Nutrition of marine animals. *Anat. Anzeig.*, t. XLVII, 1914.
- MOORE et HERDMAN (G.-A.). — Nutrition of marine animals. *Journ. of. Roy. mic. Soc.*, 1915.
- CEHLER. — Flagellaten-und Ciliatenzucht auf reinem Boden. *Arch. f. Protistenkunde*, Bd. XL, 1919-1920.
- ORTON (J.-H.). — An account of Investigations into the cause or causes of the unusual Mortality among oysters in English oyster Beds during 1920, and 1921. Ministry of Agr. and Fish., Fish. investig. Part I, vol. VI, n° 3, 1923 ; part II, vol. VI, n° 4, 1924. Report on a Survey of the Fal Estuary oyster Beds (nov. 1924) with Note on the Biology of the Oyster (*O. edulis*), 1926.
- PETERS. — Nutrition of the protozoa. The growth of (*Colpidium Colpoda*) in sterile culture medium. *Journ. of. Physiol.*, vol. LIII, 1920. — The substances needed for the growth of a pure culture of *Colpidium colpoda*. *Journ. of. Physiol.*, vol. LV, 1921.
- PETERSEN (C.-G.-J.) et JENSEN (P.-B.). — Valuation of the Sea : Animal Life of the Sea-Bottom, its food and quantity (quantitatives Studies). *Rep. Danish Biol. Stat.*, vol. LXX, 1911.
- PODHRADSKY (Jan). — A contribution to the Knowledge of the nutritive importance of the substances dissolved in water for water-animals. *Bull. Ecole Sup. d'Agron. Brno* 1925.
- PRENANT (Marcel). — Etudes histologiques sur les peroxydases animales. *Arch. de Morphologie gén. et exp.* n° 21, 1924.
- PRZYLECKI (St.-J.). — L'absorption cutanée chez les Amphibiens. *Arch. int. de physiol.*, t. XX, 1922.
- PÜTTER (A.). — Die Ernährung der Wassertiere. *Zeit. f. allg. physiol.*, Bd VII, 1907. — Der Stoffhaushalt des Meeres. *Id.*, 1907. — Die Ernährung der Fische. *Id.*, Bd IX, 1909. — Der Stoffwechsel der Aktinien. *Id.*, Bd XII, 1911. Vergleichende physiologie, Iena, 1911. — The Nutrition of Marine animals by dissolved organic Material. *Rep. of the Brit. Assoc. for the Adv. of. Sc. Dundee*, 1912. — Die Frage der parenteralen Ernährung der Wassertiere. *Biol. zentralblatt*, Bd XLII, 1922. — Die Ernährung der Copepoden. *Arch. f. Hydrobiol.*, Bd XV, 1924.
- RANSON (Gilbert). — La nutrition chez les animaux aquatiques. *C. R. A. S. Paris*, t. CLXXXII, 1926.
- SAVAGE (R.-E.). — The food of the Oyster ; *Ministry of Agric. and Fish., Fish. invest.*, vol. VIII, 1925.
- THOMSON (W.). — Les abîmes de la mer (traduction 1875).
- WOLF (M.). — Ein einfacher Versuch zur Pütterschen Théorie von der Ernährung der Wasserbewohner. *Intern. Rev. d. ges. Hydrobiol. und Hydrogr.*, Bd II, 1909.

III. — Sur les pigments

- ABELOOS (M.) et FISCHER (Ed.). — Sur l'origine et les migrations des pigments carotinoïdes chez les Crustacés. *C. R. Soc. Biol. Paris*, t. XCV, 1926. — Les pigments carotinoïdes chez les Crustacés ; sur l'origine des pigments de la carapace. *Id.*, t. XCVI, 1927.

- CHATTON (Ed), LWOFF (A.), PARAT (M.). — L'origine, la nature et l'évolution du pigment des Spirophrya, des Polyspira et des Gymnodinioides. Présence de carotinalbumines dans la mue des Crustacés décapodes. *C. R. Soc. Biol. Paris*, t. XCIV, 1926.
- COMAS (Marguerite). — Sur l'origine des pigments des larves de *Chironomus*. *C. R. Soc. Biol. Paris*, t. XCVI, 1927.
- FISCHER (Ed.). — Sur l'absorption digestive chez les Crustacés décapodes. Les pigments carotinoïdes. *C. R. Soc. Biol.*, t. XCV, 1926.
- TEISSIER (Georges). — Nature et destinée dans l'ontogenèse du pigment noir-gris des œufs de *Clava squamata* L. *C. R. Congrès Assoc. fr. av. Sc. Liège*, 1924. — Changements de coloration des embryons de *Clava squamata* au cours de l'ontogenèse. Interprétation chimique et physiologique. *Trav. stat. zool. Wimereux*, t. IX, 1925.
- VERNE (Jean). — Essai histochimique sur les pigments tégumentaires des Crustacés décapodes. *Arch. de Morphol. gén. et expér.*, n° 16, 1923. — Les pigments rouges et la formation d'hémoglobine chez les Daphnies. *Bull. Soc. Zool. de France*, 1923. — Hémoglobine et chlorophylle. Hypothèse de travail sur les rapports histo-biologiques des deux pigments chez les Animaux et leur signification. *Id.*, 1924. — Les pigments dans l'organisme animal. Doin, Paris, 1926.

IV. — Sur la seconde partie

- BOLTZMANN (H.). — Beiträge zur Kenntnis der Pericardialdrüsen der Lamellibranchiaten. *Arb. zool. Inst. Wien*, 1906.
- D'HERELLE (F.). — Les défenses de l'organisme. E. Flammarion Paris, 1923.
- DRZEWINA (Anna) et BOHN (Georges). — Sur l'acidification du milieu par cytolysé cellulaire. *C. R. A. S.*, Paris, t. CLXXXI, 1925.
- GIROUD (A.). — Le chondriome ; recherches sur sa constitution chimique et physique. *Arch. Anat. micr.*, t. XXI, 1925.
- GROBBEN (C.). — Die Pericardialdrüsen der Lamellibranchiaten. *Arb. zool. Inst. Wien*, 1886-88.
- LAPICQUE (Louis). — Mécanisme des échanges entre la cellule et le milieu ambiant. *C. R. A. S. Paris*, t. CLXXIV, 1922. — La cellule est-elle enveloppée d'une membrane cellulaire semi-perméable? *Ann. de Physiol. et physico-chimie biologique*, t. I, 1925. — Les échanges de liquide (Cours), Troisième partie : Echanges cellulaires, 1926 (notes rédigées par A. Cherbuliez).
- LAPICQUE (Louis, M. et M^{me}). — Concentration des sucres cellulaires chez les champignons supérieurs (Agaricinés). *C. R. A. S.*, t. CLXXXIV, 1927.
- MANOUKHINE (I.-I.). — La leucocytolyse, base de la lutte auto-défensive, *Journ. physiol. et pathol. gén.*, t. XXIII, 1925.
- MAYER (André), RATHERY (Fr.) et SCHÆFFER (G.). — Les granulations ou mitochondries de la cellule hépatique, t. XVI, 1914-1915, p. 582 et p. 607.
- MER. — Recherches sur l'absorption cutanée dans l'*Helix pomatia*. *C. R. Soc. Biol.*, 1877 et Paris, 1877.
- METALNIKOW (S.). — Contribution à l'étude de la digestion intracellulaire chez les Protozoaires. *Arch. zool. expér. et gén.*, t. IX, 1911-1912.
- PRENANT (A.), BOUIN (P.), MAILLARD (L.). — Traité d'histologie, t. I, Cytologie générale et spéciale ; SCHLEICHER, Paris, 1904.
- REMY (Paul). — Contribution à l'étude de l'appareil respiratoire et de la respiration chez quelques Invertébrés. Thèse, Nancy, 1925.
- RUZICKA (V.). — Zur Theorie der Vitalen Färbung. *Zeit. f. wiss. Mikr.*, Bd XXII, 1905. — Der Morphologische Metabolismus des lebenden Protoplasmas. *Arch. f. Entw. Mech.*, Bd XXI, 1906. (Résumé dans l'*Année biologique*, t. II, 1906, par J. STROHL.)
- TURCHINI (Jean). — Contribution à l'étude de l'histologie comparée de la cellule rénale. L'excrétion urinaire chez les Mollusques. *Arch. Morphol. gén. et expér.*, n° 18, 1923.
- SUSAETA JOSE (M.). — Sur l'éclatement des spermatozoïdes des Crustacés décapodes. *Bull. biol., France Belgique*, t. LX, 1926.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	49
--------------------	----

PREMIÈRE PARTIE :

CHAPITRE PREMIER

L'absorption du pigment vert du <i>Navicula Ostrearia</i> par quelques Invertébrés.	
a) L'origine du verdissement des Huîtres.....	55
b) Le <i>Navicula Ostrearia</i> Bory. Sa biologie.....	61
c) Le processus du verdissement des Huîtres	89
d) Le verdissement chez d'autres Invertébrés.....	93
e) Le pigment dans le protoplasma des épithéliums verts de l'Huitre.....	94

CHAPITRE II

Autres substances absorbées de la même façon par les Huîtres.....	109
---	-----

CHAPITRE III

L'absorption de matières organiques dissoutes par la surface extérieure du corps chez d'autres animaux aquatiques d'après des Travaux antérieurs.....	130
CONCLUSIONS.....	133

CHAPITRE IV

La nourriture susceptible d'être introduite dans le tube digestif chez les animaux aquatiques est-elle normalement insuffisante pour couvrir leurs besoins nutritifs? Théories de PÜTTER.....	135
---	-----

CHAPITRE V

Sur quelques pigments.....	143
----------------------------	-----

DEUXIÈME PARTIE :

a) Le passage de la substance absorbée à travers le protoplasma épithélial. L'amœbocyte...	147
b) L'absorption par l'épithélium externe.....	159
c) Comment pouvons-nous nous représenter le protoplasma épithélial des branchies de l'Huitre et ses réactions?.....	161
RÉSUMÉ ET CONCLUSION.....	163
BIBLIOGRAPHIE.....	169

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Les Vases argileuses actuelles

L'Action morphogénique des substances organiques sur les Végétaux

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLÉTY.

VU ET APPROUVÉ :
Paris, le 25 juillet 1927.
Le Doyen de la Faculté des Sciences,
CH. MAURAIN.



IMP. ED. BLONDEL LA ROUGERY (S^{té} AN^{yme}). — PARIS

